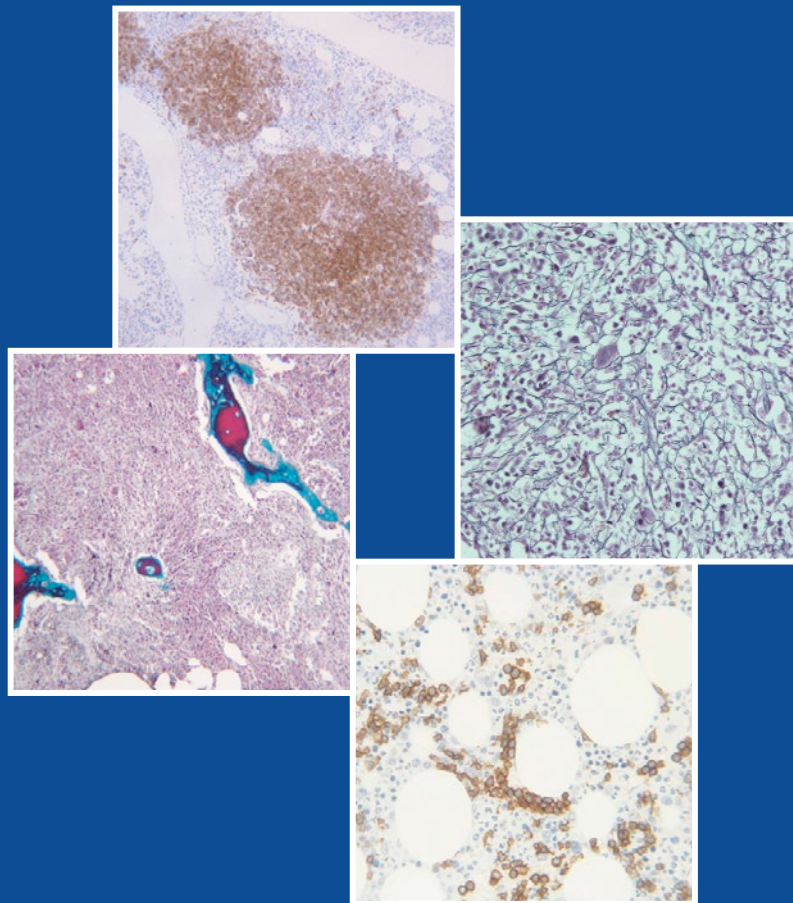


Biopsia de la médula ósea

Perspectiva clínico-patológica



Director: Luis Hernández Nieto

Comité de Redacción

Luis Hernández Nieto
José María Raya Sánchez
Hugo Álvarez Arguelles-Cabrera

2.^a edición actualizada

Biopsia de la médula ósea

Perspectiva clínico-patológica

2.ª edición actualizada

Director: Luis Hernández Nieto

Comité de Redacción

Luis Hernández Nieto
José María Raya Sánchez
Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera

Colaboradores

M.ª Dolores Cabello García
José Luis Carrasco Juan
Luis Colomo Saperas
Mar García García
Pilar Giraldo Castellano

Miguel T. Hernández García
Taida Martín Santos
Mercedes Roca Espiau
María Rozman Jurado
Lola Tobalina Maestre

© Del texto: los autores
© De la edición: Fundación Española de Hematología y Hemoterapia
Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia

ISBN: 978-84-697-6855-6

Depósito legal: M-32709-2017

Reservados todos los derechos. Ninguna parte de esta publicación puede ser reproducida, transmitida en ninguna forma o medio alguno, electrónico o mecánico, incluyendo fotocopias, grabaciones o cualquier sistema de producción, sin la autorización por escrito de los titulares del *copyright*.

A María José, mi esposa, por su apoyo y por el tiempo robado.

A Marta, María del Mar y Ana.

LUIS HERNÁNDEZ NIETO

Agradecimientos

Esta obra no hubiera sido posible sin la colaboración de muchas personas a las que deseo agradecer su generoso apoyo con la siguiente mención, siempre amenazada por la posibilidad de dejar a alguien en “el tintero.”

Gracias a todos los autores de la edición anterior y a los nuevos coautores de esta última: doctores M.^a Dolores Cabello García, Luis Colomo Saperas, Miguel T. Hernández García, Taida Martín Santos, Mercedes Roca Espiau, María Rozman Jurado y Lola Tobalina Maestre.

Muy especialmente a quienes complementan conmigo el comité de redacción, doctores José M.^a Raya Sánchez y Hugo Álvarez-Argüelles, por las numerosas y prolongadas reuniones que han ocupado su tiempo, pero sobre todo por el trabajo diagnóstico asistencial en sesiones conjuntas hematopatológicas, semana tras semana a lo largo de tantos años.

Al profesor Eduardo Salido, jefe del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario de Canarias, por facilitar la interacción hematólogos-patólogos, uno de los fundamentos de nuestro trabajo.

Al profesor Vicente Vicente García, por su convencimiento de que el libro debía ser reeditado y su estimulante “empujoncillo” para ponernos manos a la obra.

A toda la Junta Directiva de la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia (SEHH), que aprobó en su momento la idea de esta nueva edición y al personal de la Fundación Española de Hematología y Hemoterapia (FEHH) implicado en ella.

Al profesor Jordi Sierra Gil, actual presidente de la SEHH, por facilitar la nueva edición de la obra.

A la doctora Soledad Woessner Casas, maestra y ejemplo de hematólogos que, además de guiarme en las primeras biopsias en el Hospital Clínic de Barcelona, ha confiado en nosotros desde hace mucho tiempo y amablemente ha redactado el prólogo para esta edición.

A nuestros pacientes, razón primera de nuestros esfuerzos profesionales.

Y last, but not less, a mi Maestro, el profesor Ciril Rozman, desde Salamanca hasta ahora, por su fundamental papel en mi formación científica y profesional.

Luis Hernández Nieto

Octubre de 2017

Prólogo a la primera edición (2006)

Ciril Rozman

Catedrático emérito de Medicina. Universidad de Barcelona

Constituye para mí un gran honor a la par que una notable satisfacción tener la oportunidad de prologar este excelente libro *Biopsia de la médula ósea. Perspectiva clínico-patológica*. Y siguiendo un método que suelo emplear en ocasiones parecidas, centraré mis comentarios en tres aspectos distintos: a) materia a la que está dedicado el libro; b) sus autores; y c) su contenido.

La histopatología de la médula ósea ocupa un lugar preeminente en la práctica hematológica. En determinadas ocasiones, por ejemplo, ante un aspirado medular “seco”, la práctica de la biopsia es absolutamente obligada para resolver la situación diagnóstica. En otras, circunstancias como pueda ser el caso de los linfomas malignos, esta exploración complementaria es imprescindible para una correcta estadificación. No es infrecuente que el análisis histopatológico de la médula ósea contribuya al pronóstico del proceso subyacente. Recordemos al respecto la peor supervivencia de los pacientes afectados de leucemia linfocítica crónica que presenten una infiltración medular difusa en relación con los que muestran patrones no difusos. Por último, no rara vez se requiere la biopsia medular para evaluar adecuadamente una respuesta terapéutica.

Una característica especial de la histopatología de la médula ósea es su condición de área puente entre dos especialidades: anatomía patológica y hematología. Antaño no era extraño un divorcio entre los profesionales pertenecientes a estos dos colectivos respecto a la materia que nos ocupa, lo que les llevaba a hablar idiomas distintos ante un mismo problema. Afortunadamente, en los tiempos actuales suele darse una colaboración exquisita entre ellos, lo que redundará en beneficio del paciente. Con frecuencia he insistido sobre la gran importancia que tiene la citomorfología sanguínea y medular para la hematología. He llegado a afirmar que el microscopio tiene para el hematólogo clínico un valor idéntico que el fonendoscopio para el cardiólogo. A estas aseveraciones me permitiría añadir que la interpretación de la histopatología medular debe realizarse, no de forma aislada, sino con el pleno conocimiento de la historia clínica y de los resultados citomorfológicos antes mencionados. Por consiguiente, esta tarea la podrá realizar tanto el hematólogo con especial interés por la morfología como el patólogo con dedicación específica a los problemas hematológicos. Y aún mejor cuando ambos especialistas suman sus esfuerzos en una interpretación conjunta.

Pasando al apartado de los autores, el presente texto constituye un excelente ejemplo de colaboración entre los dos grupos de profesionales. Pero sería injusto si no destacase entre ellos al director de la obra, el profesor Luis Hernández Nieto. Junto a su condición de catedrático de medicina interna, ha dedicado muchos esfuerzos de su vida a la hematología y, entre todos sus campos, ha destacado de modo muy especial en el terreno de la biopsia medular. En la ya lejana década de los años setenta, sentimos en nuestra Escuela de Hematología de Barcelona la necesidad de que alguno de sus miembros ahondase en los estudios de la histopatología de la médula ósea. Con este objetivo, el doctor Luis Hernández Nieto realizó una estancia en el Hospital de Saint-Antoine de París, junto al profesor Gérard Duhamel, uno de los grandes expertos europeos en la materia.

De vuelta a Barcelona, realizó entre nosotros numerosos estudios sobre la histopatología medular. En su haber cabe citar, por ejemplo, la identificación de los patrones de infiltración medular en la leucemia linfocítica crónica. Sus esfuerzos vieron la luz en forma de libro: *Biopsia medular en la clínica hematológica*, que tuve el privilegio de publicar con él en 1980. Al cabo de más de un cuarto de siglo, el profesor Hernández Nieto ha demostrado la suficiente inquietud e iniciativa como para dirigir un nuevo libro, el presente, adaptado a las circunstancias actuales. Para ello se ha rodeado de excelentes profesionales, destacados expertos en sus respectivas materias. Y para que el equilibrio fuera perfecto, de los ocho coautores, cuatro pertenecen al campo de la hematología y los restantes cuatro al de la histopatología.

Dadas las circunstancias, era lógico que el resultado de este esfuerzo común fuera óptimo. El libro que estoy prologando puede constituir una magnífica herramienta de trabajo tanto para los patólogos interesados en las enfermedades de la sangre y de los órganos hemopoyéticos como para los hematólogos que muestren un especial interés por la morfología. Ningún capítulo importante falta en la obra. Después de situar la biopsia medular en la perspectiva clínica actual, se abordan con detalle las cuestiones técnicas (obtención, métodos de preparaciones de las muestras, incluyendo los procedimientos histoquímicos, estudio de la médula ósea normal y los principales artefactos), para profundizar a continuación en los principales grupos nosológicos de interés: aplasia medular y situaciones afines, síndromes mielodisplásicos, enfermedades mieloproliferativas crónicas, síndromes linfoproliferativos (tanto los que cursan con expresión leucémica como los que no), gammapatías monoclonales, así como situaciones misceláneas (cáncer metastásico, sistema mononuclear fagocítico, mastocitosis sistémica y otras). Se incluyen interesantes principios para la elaboración de un informe de biopsia de médula ósea y, asimismo, un vistoso capítulo sobre la resonancia magnética.

Considero que la mayor virtud del presente libro estriba en que los diferentes capítulos están redactados con rigor, de modo sucinto y cumplen perfectamente con el objetivo marcado en el subtítulo, es decir, desde la perspectiva clínico-patológica. Si a ello se añade que la iconografía es de gran calidad, podemos concluir que tanto el director como sus colaboradores están prestando con esta obra un magnífico servicio a los profesionales interesados en el tema y, a través de ellos, a nuestros pacientes, objetivo último e ineludible de la profesión médica.

Prólogo

Soledad Woessner

Escola de Citologia Hematològica Soledad Woessner/Parc de Salut Mar

Ha sido para mí motivo de alegría recibir el encargo de prologar la muy esperada nueva edición del libro *Biopsia de la médula ósea. Perspectiva clínico-patológica*, dirigida por el Prof. Luis Hernández Nieto en colaboración con su reconocido y multidisciplinar equipo de colaboradores.

Quiero recordar que la especial dedicación del Prof. Hernández Nieto al estudio de la biopsia de médula ósea se remonta a la ya lejana década de los años setenta; fruto de esta dedicación fue su coautoría en el libro del Prof. C. Rozman titulado *Biopsia medular en la clínica hematológica* (1980). La experiencia acumulada en más de dos décadas se compiló en la primera edición de este libro (2006) y se ha visto debidamente actualizada en esta segunda edición (2017) que tengo el encargo de presentar. Esta segunda edición se ha visto ampliada en el número de colaboradores con la singularidad de reunir a hematólogos y patólogos muchas veces frente a un mismo microscopio intercambiando conocimientos, experiencias y opiniones que se han plasmado sobre papel; se han registrado cambios sustanciales en lo referente al texto, las imágenes y la actualización de las citas bibliográficas.

El capítulo introductorio sitúa al lector en el contexto informativo de la biopsia medular en diversas enfermedades hematológicas y extrahematológicas y se advierte de la frecuente confusión semántica entre los términos aspirado y biopsia. La lectura de este capítulo inicial me ha recordado el proverbio “lo que bien empieza bien acaba” y al finalizar la lectura de todos los capítulos puedo afirmarlo. Los siguientes capítulos se refieren a recomendaciones técnicas actualizadas de la obtención de la muestra, métodos de descalcificación, fijación, inclusión, tinciones estándar, histoquímicas, inmunohistoquímicas e interesantes recomendaciones para la elaboración de un informe. Seguidamente, se pasa a la interpretación de la biopsia medular en los principales grupos nosológicos de la hematología que requieren de un estudio morfológico/histológico. El capítulo de los síndromes mielodisplásicos y de las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas ha experimentado importantes variaciones atendiendo a la revisión de la Organización Mundial de la Salud (OMS) del año 2016. Es inhabitual que un libro dedicado a la citohistología morfológica disponga de capítulos que se ocupen de exploraciones de imagen (resonancia magnética, tomografía por emisión de positrones) y la comparación de su rendimiento con respecto al de la biopsia de la médula ósea. Finalmente, se estudia la biopsia de la médula ósea en situaciones que exceden el ámbito hematológico, como por ejemplo el cáncer metastásico o mielopatías inespecíficas de etiologías diversas. La loable simbiosis entre el saber de hematólogos y de patólogos, insulares y peninsulares, confiere a este libro una especial singularidad.

Introducción

Luis Hernández Nieto

No es muy necesario justificar a mis colegas la renovación de un libro médico después de casi 11 años de publicar su primera edición. Todos sabemos qué ocurre con los conocimientos científicos después de una década, si bien es cierto que como hablamos de un libro básicamente morfológico, podría pensarse que los cambios pueden ser menos importantes, ya que lo esencial no varía tanto. Sin embargo, al ser el contenido de nuestro libro “clínico-patológico,” es decir, una confluencia de conocimientos científicos de dos colectivos profesionales (patólogos y hematólogos), no nos libramos de ese inevitable mal del envejecimiento. Por ello, emprendimos esta nueva aventura convencidos de su necesidad y confiando en la probabilidad de una buena acogida, en ambos tipos de profesionales (clínicos y patólogos). Y cómo no decirlo, con agradecimiento por la buena acogida del libro anterior, nos pusimos manos a la obra, animados por algunos buenos compañeros, que nos manifestaban echar ya de menos la segunda edición.

En estos últimos años, se ha incrementado el “arsenal” de biomarcadores histopatológicos y celulares, se ha publicado la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de las neoplasias mieloproliferativas (NMP) y neoplasias mielodisplásicas (NMD), se ha separado las mastocitosis del grupo de las NMP, los clínicos han realizado estudios y se han interrogado sobre la necesidad o no de realizar más de una biopsia (biopsia bilateral) y finalmente los procedimientos diagnósticos de imagen (resonancia magnética, tomografía axial computarizada –TC–, tomografía por emisión de positrones asociada o no a TC y sus variantes) amplían una cambiante serie de técnicas diagnósticas incruentas, que deben confrontarse con el estudio histopatológico de la médula, un procedimiento relativamente sencillo y moderadamente invasivo. Todos estos aspectos han sido retomados y actualizados en esta 2.^a edición que esperamos tenga una buena acogida entre clínicos, hematólogos “de laboratorio” y patólogos implicados en el caleidoscópico mundo de la hemopatología.

Para esta 2.^a edición, se han revisado y actualizado todos los textos del libro anterior; se han incorporado o sustituido más de 50 imágenes y se han renovado más de 55 referencias bibliográficas. Se han incorporado 7 nuevos autores, lo que hace un total actual de 13, frente a los 8 de la primera edición. De ellos, 8 de centros de Tenerife y 6 de centros de Barcelona y Zaragoza.

Debo expresar mi gratitud a los nuevos primeros autores de capítulos, los doctores M.^a Dolores Cabello García, Luis Colomo Sopera y María Rozman Jurado, así como al resto de los nuevos colaboradores.

Una novedad, ausente en la primera edición, ha sido la constitución de un Comité de Redacción compuesto por los doctores José M.^a Raya Sánchez, Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera y quien esto escribe; juntos hemos recorrido el camino desde la concepción del nuevo libro hasta su culminación, con muchas horas y sesiones de análisis y de nuevas ideas. Por tanto, aprovecho estas líneas para agradecer a ambos colegas de la Universidad de La Laguna y el Hospital Universitario de Canarias, su decisiva labor, que con seguridad contribuirá a que el nuevo libro sea una herramienta tanto o más útil que la primera, lo que deben juzgar los futuros lectores.

Por último y no menos importante, mi más sincero agradecimiento a la Sociedad Española de Hematología y Hemoterapia, representada por su presidente y la Junta Directiva, que en su momento aprobaron la reedición del libro, y con las bases en la realización práctica de su secretaria general, Dra. Carmen García Insausti; su gerente, D. Carlos Fernández Panduro; y su secretaria técnica, D.^a Carmen González Díaz, por su excelente labor de coordinación.

Muchas gracias a todos.

Índice de autores

Comité de Redacción

Director: Luis Hernández Nieto

Catedrático de Medicina Interna. Profesor Honorario de la Universidad de La Laguna
Exjefe del Servicio de Hematología
Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

José María Raya Sánchez

Profesor asociado de Medicina. Universidad de La Laguna
Jefe de Sección de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera

Profesor titular de Anatomía Patológica. Universidad de La Laguna
Médico adjunto del Servicio de Anatomía Patológica
Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Colaboradores

María Dolores Cabello García

Médico adjunto de Medicina Nuclear
Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

José Luis Carrasco Juan

Profesor titular de Histología
Universidad de La Laguna. La Laguna, Tenerife

Luis Colomo Saperas

Jefe del Departamento de Hematopatología e Inmunohistoquímica
Hospital del Mar/Parc de Salut Mar. Barcelona

Mar García García

Médico adjunto. Servicio de Anatomía Patológica
Hospital Universitario Miguel Servet. Zaragoza

Pilar Giraldo Castellano

Investigadora. Unidad de Investigación Traslacional
Instituto de Investigación Sanitaria Aragón U-752 CIBERER. Zaragoza

Miguel T. Hernández García

Profesor asociado de Medicina. Universidad de La Laguna
Jefe del Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Taida Martín Santos

Médico adjunto. Servicio de Hematología y Hemoterapia
Hospital Universitario de Canarias. La Laguna, Tenerife

Mercedes Roca Espiau

Investigadora. Diagnóstico Médico por Imagen Aragón
U-752 CIBERER, Zaragoza

María Rozman Jurado

Consultor senior. Sección de Hematopatología. Servicio de Anatomía Patológica
Hospital Clínic. Universidad de Barcelona

Lola Tobalina Maestre

Médico adjunto. Sección de Hematopatología e Inmunohistoquímica
Hospital del Mar/Parc de Salut Mar. Barcelona

Sumario

La biopsia de médula ósea como método morfológico de estudio de la hematopoyesis. Biopsia y aspirado de médula ósea: rendimiento e indicaciones de una y otra técnica	1
Luis Hernández Nieto	

Técnica de obtención de la biopsia de médula ósea	5
José María Raya Sánchez	

Metodología de fijación, decalcificación e inclusión de biopsias de médula ósea. Tinciones histoquímicas estándar recomendadas	15
Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, José Luis Carrasco Juan	

Principales técnicas inmunohistoquímicas y sus aplicaciones	29
Mar García García	

Histología de la médula ósea normal. Principales artefactos en las biopsias medulares	39
Luis Hernández Nieto, Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera	

La biopsia de médula ósea en la aplasia medular y situaciones afines	65
José María Raya Sánchez, Taida Martín Santos	

La biopsia medular en los síndromes mielodisplásicos y las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas	83
María Rozman Jurado, José María Raya Sánchez	

Biopsia de médula ósea en las neoplasias mieloproliferativas	97
Luis Hernández Nieto, José María Raya Sánchez, Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera	
Biopsia medular en las neoplasias linfoides	133
Luis Colomo Saperas, Lola Tobalina Maestre, Miguel T. Hernández García	
La biopsia de médula ósea en el estudio de las gammopatías monoclonales .	159
José María Raya Sánchez, Miguel T. Hernández García	
Exploraciones de imagen (I): tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa en combinación con tomografía computarizada (FDG-PET/TC) versus biopsia de médula ósea, en mieloma múltiple y linfomas	179
María Dolores Cabello García, Miguel T. Hernández García	
Exploraciones de imagen (II): la resonancia magnética frente a la biopsia medular como método de estudio de la médula ósea en distintas situaciones	187
Pilar Giraldo Castellano, Mercedes Roca Espiau	
La biopsia de médula ósea en situaciones diversas: cáncer metastásico, patología del sistema mononuclear fagocítico, mastocitosis sistémica, infección por virus de la inmunodeficiencia humana y mielopatía inespecífica tumoral	203
Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, José Luis Carrasco Juan, José María Raya Sánchez, Miguel T. Hernández García, Luis Hernández Nieto	
Principios para la elaboración de un informe de biopsia de médula ósea . . .	241
Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, José María Raya Sánchez, Luis Hernández Nieto	

Principales siglas

AAS:	ácido acetilsalicílico	FDG-PET:	tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa
ADN:	ácido desoxirribonucleico	FDG-PET/TC:	tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa con tomografía computarizada
AINE:	antiinflamatorio no esteroideo	FDG-PET/MRI:	tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa y resonancia magnética nuclear
AME:	antígeno de membrana epitelial (ver EMA)	FGF:	<i>fibroblast grow factor</i> , factor de crecimiento de fibroblastos
AMO:	aspirado de médula ósea	Fi:	Filadelfia
AR:	anemia refractaria	FISH:	hibridación fluorescente <i>in situ</i>
AREB:	anemia refractaria con exceso de blastos	GMSI:	gammapatía monoclonal de significado indeterminado
ARS:	anemia refractaria sideroblástica	Hb:	hemoglobina
AFP:	alfafetoproteína	HCG:	gonadotrofina coriónica
ATG:	globulina antitimocítica	HCL:	histiocitosis de células de Langerhans
BM:	biopsia medular	HES:	hiperplasia y/ o ectasia sinusoidal
BMO:	biopsia de médula ósea	HPN:	hemoglobinuria paroxística nocturna
CB:	crisis blástica	IHQ:	inmunohistoquímica
CD:	<i>cluster</i> de diferenciación	IPSS:	sistema pronóstico internacional por índice de puntos
CFU-GM:	unidad formadora de colonias de granulocitos y monocitos	LA:	leucemia aguda
CK:	citoqueratina	LAM:	leucemia aguda mieloblástica
DAB:	diaminobencidina	JAK 2:	<i>Janus kinase 2</i> , Janus cinasa 2
DMV:	densidad microvascular	LAPI:	localización anormal de precursores inmaduros
EDTA:	ácido etilendiaminotetraacético	LBM:	linfocitosis B monoclonal
ELPCEL:	enfermedad linfoproliferativa crónica de expresión leucémica	LBCG:	linfoma de células grandes B
EMA:	<i>epithelial membrane antigen</i> , antígeno de membrana epitelial (AME)	LBCDG:	linfoma difuso de células grandes B
EMPC:	enfermedad mieloproliferativa crónica	LCM:	linfoma de células del manto
ENE:	enolasa neuroespecífica	LDH:	deshidrogenasa láctica
EPO:	eritropoyetina	LF:	linfoma folicular
ES:	eritrocitosis secundaria		
ESMO:	Sociedad Europea de Oncología Médica		
FAB:	franco americano británica		
FC:	fase crónica (de la LMC)		
FDG:	fluordesoxiglucosa		

LLC:	leucemia linfocítica crónica	PGFA:	proteína gliofibrilar ácida
LLCP:	linfoma linfocítico de células pequeñas	PT-1:	<i>primary thrombocythemia 1</i>
LLp:	linfoma linfoplasmocítico	POEMS:	plasmocitoma, osteosclerosis
LMC:	leucemia mieloide crónica	PSA:	<i>prostate specific antigen</i> , antígeno prostático específico
LMMC:	leucemia mielomonocítica crónica	PV:	policitemia vera
LH:	linfoma de Hodgkin	PVSG:	<i>Polycythemia Vera Study Group</i> , Grupo de Estudio de la Policitemia Vera
LHc:	linfoma de Hodgkin, clásico	QSCI:	<i>chemical-shift selective imaging techniques</i>
LNH:	linfoma no Hodgkin	RC/G:	relación celularidad/grasa
LNPI:	localización normal de precursores inmaduros	REPO:	receptor de eritropoyetina
LPL:	leucemia prolinfocítica	RM:	resonancia magnética
LZME:	linfoma de la zona marginal esplénica	RMCE:	resonancia magnética de cuerpo entero
MALT		RP:	remisión parcial
(Linfoma MALT):	<i>mucosal associated lymphatic tissue</i> (linfoma del tejido linfático asociado a mucosas)	RPN:	remisión parcial nodular
M7:	LAM 7 leucemia aguda mieloblástica 7	Sida:	síndrome de inmunodeficiencia adquirida
Mc:	megacariocito	SM:	supervivencia mediana
MF:	mielofibrosis	SMD:	síndrome mielodisplásico
MF/C:	mielofibrosis en fase celular	SMDh:	síndrome mielodisplásico hipoplásico o hipocelular
MFP:	mielofibrosis primaria	SUV:	<i>standardised uptake value</i> , valor de captación estandarizado
MF 0 –:	mielofibrosis sin osteosclerosis	T1:	en la resonancia magnética, tiempo de relajación horizontal
MF 0 +:	mielofibrosis con osteosclerosis	T2:	en la resonancia magnética, tiempo de relajación transversal
MM:	mieloma múltiple	TC:	tomografía computarizada
MPO:	mieloperoxidasa	TCPR:	tumor maligno de células pequeñas y redondas
MS:	mastocitosis sistémica	TDT:	desoxinucleotidil transferasa terminal
NCAM:	<i>neural cell adhesion molecule</i> , molécula de adhesión de células neurales	TE:	tiempo de eco
NMO:	necrosis de médula ósea	TGF:	<i>transforming growth factor</i> , factor de crecimiento transformante
NMP:	neoplasias mieloproliferativas	TNF:	<i>tumor necrosis factor</i> , factor de necrosis tumoral
NMP Fi –:	neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas	TL:	tricoleucemia
OMS:	Organización Mundial de la Salud	TPH:	trasplante de progenitores hematopoyéticos
PAP:	peroxidasa antiperoxidasa	TR:	tiempo de repetición
PAS:	ácido peryódico de Schiff	VEB:	virus de Epstein-Barr
PCR:	<i>polymerase chain reaction</i> , reacción en cadena de la polimerasa	VIH:	virus de la inmunodeficiencia humana
PET:	tomografía por emisión de positrones		
PET/TAC, PET-TC:	tomografía por emisión de positrones/ tomografía axial computarizada		

La biopsia de médula ósea como método morfológico de estudio de la hematopoyesis.

Biopsia y aspirado de médula ósea: rendimiento e indicaciones de una y otra técnica

Luis Hernández Nieto

1. Introducción y aclaración semántica

La morfología sigue siendo en la actualidad una disciplina fundamental en el diagnóstico hematológico. Hoy sigue teniendo vigencia el símil que hace muchos años oí al profesor Rozman, quien equiparaba la morfología (más concretamente la citología) en manos de los hematólogos al estetoscopio en manos de los cardiólogos. El único matiz que se me ocurre es que tal vez ahora estos últimos especialistas podrían prescindir mejor de la auscultación que nosotros del microscopio.

Si nos referimos a la exploración morfológica de la médula ósea, disponemos de 2 métodos: la citología del aspirado medular –en adelante, aspirado de médula ósea (AMO)– y el estudio histológico de una muestra de hueso esponjoso –en adelante, biopsia de médula ósea (BMO) o biopsia medular (BM)–. Pero antes de seguir adelante se hace necesaria una aclaración semántica: el término biopsia no quiere decir otra cosa (según sus raíces griegas) mas que la toma de una muestra de tejido para su observación *in vivo*, con lo que, desde este punto de vista, también el aspirado medular, que obtiene un tejido, aunque disgregado, sería una biopsia. De hecho, en algún texto en inglés no se distingue entre aspirado y biopsia (para confusión de los hispanohablantes) y con frecuencia se utiliza el término

de biopsia medular para referirse al AMO, mientras que a veces en estos textos la referencia al estudio de una sección de médula es la de *trephine biopsy*, esto es, biopsia con trocar. Estas divergencias pueden confundir al lector novel, por lo que nos parecía necesario al inicio de este libro aclarar este aspecto semántico. En español, estamos acostumbrados a llamar al estudio citológico “AMO” y al histológico “BMO” y recomendamos usar esta terminología.

2. ¿Por qué hay que estudiar cortes histológicos además de extensiones?

Diferentes exploraciones relacionadas de un mismo órgano ofrecen visiones distintas del mismo y, en el caso de la médula ósea, para comprender la utilidad de la biopsia, deberíamos en primer lugar tener muy claro qué visión de la médula nos aporta el AMO. Dicha exploración extrae por succión mediante una jeringuilla (esto es, distorsionando la estructura normal del tejido) un gran número de células, cuya morfología podemos estudiar con todo detalle una vez que han sido extendidas y convenientemente coloreadas sobre un portaobjetos, obteniendo así una muy valiosa información de lo que, con frase tétrica pero certera, dijera Bessis⁽¹⁾: “cadáveres aplastados bellamente coloreados”. El AMO es la

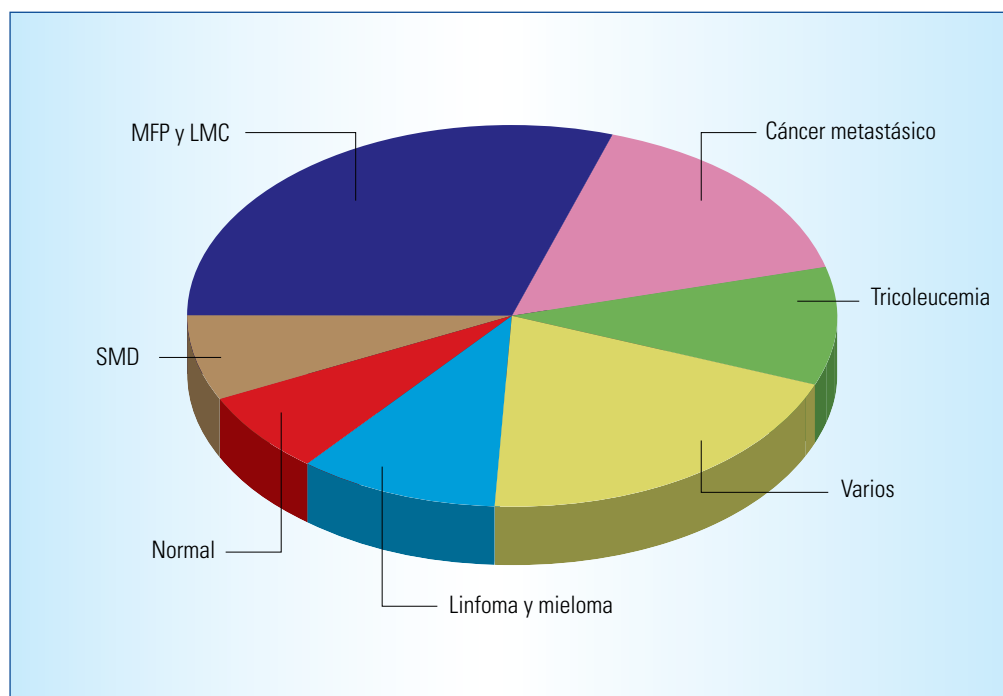


Figura 1. Causas de aspirado medular blanco (*dry tap*) en 87 casos, según J. E. Humpreis^[2]. LMC: leucemia mieloide crónica; MFP: mielofibrosis primaria; SMD: síndromes mielodisplásicos.

mejor forma de reconocer con precisión (dejando aparte la poco práctica microscopía electrónica de transmisión) los detalles celulares, tan importantes para la identificación de las células normales, los rasgos mielodisplásicos, la megaloblastosis o tipificar las leucemias agudas, entre otros posibles ejemplos. Pero a veces no se pueden obtener los grumos medulares que deben extenderse en el cristal, la médula no sale, lo que solemos conocer como “punción blanca”. Esta ocurre por 3 razones básicas: aplasia medular, fibrosis medular y “médula empaquetada” (situación de gran hiper celularidad, en la que la células quedan atrapadas por su propia expansión). Tal ocurre en algunas leucemias agudas, neoplasias mieloproliferativas y metástasis (Figura 1). También en situaciones de osteosclerosis, la rigidez y la capacidad de penetración del trocar de aspirado ni siquiera consiguen perforar la cortical y entrar en las celdillas medulares^[2]. En otro orden de cosas, el aspirado obtiene las células de un punto muy concreto de la médula, lo que tiene 2 inconvenientes: 1) escasas probabilidades de detectar pequeñas (microscópicas) lesiones focales, que no yacen bajo el punto de penetración de la aguja; y 2) dificultad de apreciar la riqueza medular en algunas situaciones que pueden distribuirse de

forma más o menos heterogénea^[3]. Es ampliamente reconocido que la apreciación de la verdadera riqueza celular de la médula es mejor valorada por una biopsia que por el aspirado^[4]. De ahí que, ya hace muchos años, Maximilian Block^[5] enunciara su inteligente y tópico axioma, que sigue teniendo una gran fuerza de convicción: “An acellular marrow smear means: that the marrow may be acellular, hypocellular, hypercellular, fibrotic, osteosclerotic or replaced by an abnormal tissue”.

Pero, además, el aspirado no nos dice nada acerca de la arquitectura y la topobiología medular^[6], que pueden estar conservadas o modificadas, como en mielofibrosis y síndromes mielodisplásicos (SMD), ni tampoco nos permite ver adecuadamente algunas estructuras estromales de gran importancia, como los vasos sanguíneos y las fibras de reticulina.

3. ¿Cuándo está indicado el aspirado de médula ósea y cuándo la biopsia de médula ósea?

La lectura del apartado anterior nos lleva de la mano a la respuesta: se utiliza el AMO cuando se prevé que lo más importante en el contexto del paciente

Tabla 1. Aspirado y biopsia medulares. Elección de la técnica

El aspirado es idóneo para	La biopsia es idónea para
<ul style="list-style-type: none"> • Reconocimiento celular detallado • Tipificación de blastos • Estudio del hierro medular • Células tesaurosómicas • Parásitos unicelulares • Citoquímica, citogenética, citometría de flujo, cultivo microbiológico 	<ul style="list-style-type: none"> • Reconocimiento de la estructura general normal y sus alteraciones • Evaluación de la celularidad global y de la grasa • Detección e identificación de lesiones focales (linfoma, granulomas, metástasis de cáncer epitelial, patrones infiltrativos en síndromes linfoproliferativos) • Fibrosis medular (única técnica útil) • Patrones histopatológicos de infiltración de neoplasias • Valoración de hueso, vasos y estroma • Identificación de células mediante inmunohistoquímica

Modificada de Woessner, 2000

que se estudia sea la morfología, el detalle celular, y cuando precisemos hacer citogenética, cultivos microbiológicos, biología molecular y citometría de flujo a partir del espécimen medular. Preferiremos la BMO si nos interesa sobre todo:

- La arquitectura y la topología medular.
- La valoración de la riqueza medular o celularidad.
- Cuando busquemos lesiones focales (agregados o nódulos linfoides, afección medular por linfoma, presencia de granulomas).
- Cuando se sospeche mielofibrosis (que impide la aspiración).

Estos aspectos determinantes de la elección de una u otra técnica quedan recogidos en la [Tabla 1](#).

4. Biopsia de médula ósea y aspirado de médula ósea: técnicas complementarias

El planteamiento de ambas exploraciones como excluyentes o “competitivas” es erróneo. No puede decirse, de forma general, que una exploración sea superior a la otra; sin embargo, es cierto que, de acuerdo con la enfermedad o síndrome en estudio, a menudo una de las dos es de mayor rendimiento ([Tabla 2](#)) y, con alguna frecuencia, la enfermedad requiere de ambas, como puede ser en los SMD o la leucemia linfocítica crónica (LLC). En el primer caso, es imprescindible el aspirado, que además de permitirnos obtener datos

de citogenética y biología molecular, nos ofrecerá las claves morfológicas para el diagnóstico; pero, en ocasiones, interesa descartar la presencia de fibrosis (solo posible mediante la biopsia) o reconocer también mediante esta la presencia de precursores inmaduros de localización anormal (LAPI). En la LLC, necesitamos el aspirado, además de para cuantificar el grado de infiltración medular por linfocitos característicos (un criterio diagnóstico), para técnicas de citometría de flujo y genética; además, aunque en los últimos años no se considera un factor clave, está demostrado su significado pronóstico en esta enfermedad, por lo que no deberíamos prescindir del mismo. Por otra parte, en algunos cuadros como las neoplasias mieloproliferativas crónicas, aunque una de las dos (la BMO) es pilar fundamental del diagnóstico, la otra (el AMO) es indispensable para los estudios citogenéticos y moleculares, también necesarios en otros contextos. En la detección de metástasis de neuroblastoma, se ha demostrado que ambas exploraciones por separado pueden ofrecer un importante contingente de falsos negativos, por lo que ambas son complementarias⁽⁷⁾. Por todo ello, concluimos que AMO y BMO son exploraciones complementarias entre sí y, en la actualidad, es difícil prescindir de una de ellas en la mayoría de los casos. A lo largo de los capítulos que siguen, podremos ver con más detalle cuál es la utilidad de la BMO en cada proceso⁽⁸⁻¹⁴⁾.

Tabla 2. Indicaciones del aspirado y de la biopsia medular en distintas situaciones patológicas

Situación	Aspirado	Biopsia
Leucemias agudas	+	Sospecha de leucemia aguda megacarioblástica (fibrosis) o ante punción blanca
Aplasia medular		+
Síndromes mielodisplásicos	+	Complementaria y a veces indispensable (fibrosis, hipoplasia)
Gammopatías monoclonales	+	En aspirado blanco, proporciona la carga tumoral aproximada
Anemia macrocítica	+	
Neoplasias mieloproliferativas	Como método auxiliar (citogenética, biología molecular)	+
Trombopenia sin filiar	+	Si aspirado blanco
Leucopenia sin filiar	+	Si aspirado blanco
Estudio de extensión de linfomas		+
Leucemia linfocítica crónica	Dudoso, aunque convencionalmente necesario para el diagnóstico	Patrón histológico y carga tumoral
Tricoleucemia		Valor pronóstico de los distintos patrones
Búsqueda de metástasis medulares		+
Búsqueda de granulomas		+
Fiebre de origen desconocido	+ (parásitos, granulomas, permite cultivos)	+ (si aspirado no informativo)

5. Bibliografía

1. Bessis M. Les cellules du sang normal et pathologique. París: Masson et Cie; 1972.
2. Humpries JE. Dry tap bone marrow aspiration: clinical significance. Am J Hematol. 1990;35:247-50.
3. Hassimoto M. Pathology of bone marrow. Acta Haemat. 1962;27:193-216.
4. Gruppo RA, Lampkin BC, Granger S. Bone marrow cellular-ity determination: comparison of the biopsy, aspirate, and buffy coat. Blood. 1977;49:29-31.
5. Block M, Bethard WF. Bone marrow studies in polycythe-mia. J Clin Invest. 1952;31:618.
6. Naeim F. Topobiology in hematopoiesis. Hematol Pathol. 1995;9(2):107-19.
7. Aronica PA, Pirrotta VT, Yunis EJ, Penchansky L. Detection of neuroblastoma in the bone marrow: biopsy versus aspi-ration. J Pediatr Hematol Oncol. 1998;20:330-4.
8. Kim S, Zehnder JL. Bone marrow aspiration and biopsy: in-dications and technique. UpToDate; 2006.
9. Hernández Nieto L, Rozman C. Biopsia medular en la clínica hematológica. Barcelona: Salvat; 1980.
10. Frisch B, Lewis SM, Burkhardt R, Bartl R. Biopsy pathology of bone and bone marrow. Nueva York: Raven Press; 1985.
11. Hyun BH, Gulati GL, Ashton JK. Bone marrow examination: techniques and interpretation. Hematol Oncol Clin North Am. 1988;2:513-23.
12. Frisch B, Bartl R. Atlas of bone marrow pathology. Springer Netherlands; 1990.
13. Hernández Nieto L. Papel de la biopsia de medula ósea en el diagnóstico y pronóstico de las hemopatías. Haematolo-gia. 1997;82(Suppl 1):28-37.
14. Woessner S, Florensa L (eds.). Punción aspirativa de los órganos hematopoyéticos. Biopsia de la médula ósea. Breves considera-ciones anatómicas del bazo. En: La citología óptica en el diag-nóstico hematológico. Madrid: Acción Médica S.A. y Fundación Española de Hematología y Hemoterapia; 2000. pp. 145-63.

Técnica de obtención de la biopsia de médula ósea

José María Raya Sánchez

1. Introducción

Aunque, a principios del siglo XX, ya el italiano Ghedini publicó su experiencia en cuanto a una primitiva forma de obtención de médula ósea⁽¹⁾, la biopsia de médula ósea (BMO) como técnica diagnóstica, tal y como hoy la entendemos, tiene sus orígenes en la década de los cincuenta del pasado siglo de la mano de Dameshek y McFarland^(2,3). Desde entonces, se ha convertido en un método imprescindible en el diagnóstico, el seguimiento y el pronóstico de muchos pacientes afectados de enfermedades hematológicas, siendo además de gran ayuda en otras situaciones clínicas. Aunque el procedimiento es percibido *a priori* como una prueba diagnóstica molesta y dolorosa por la mayoría de los pacientes y no pocos profesionales sanitarios, lo cierto es que, en manos de un hematólogo con conocimientos y experiencia suficientes, esto no debe ser un problema añadido. En efecto, el hematólogo es históricamente el médico más directamente relacionado con la mayoría de los candidatos a realizarse la prueba, generalmente pacientes del propio servicio de hematología; es el profesional más familiarizado, desde su etapa de médico interno residente, con el procedimiento; y es capaz de valorar si procede realizar conjuntamente un aspirado medular, de elegir el lugar de punción más adecuado en cada caso y de interpretar la información citológica aportada por una tinción de la impronta del cilindro óseo. En algún momento se ha sugerido que pueda ser algún otro profesional sanitario el que pueda realizar la prueba, extremo este que no compartimos⁽⁴⁾.

A lo largo del tiempo, se han utilizado diferentes trocares para realizar la BMO, denominados en general según su diseñador o inventor, ya fueran de aplicación manual (Jamshidi, Vim-Silverman, Westerman-Jensen, Tanzer, etc.) o accionados por electricidad (Burkhardt, Black and Decker®, OnControl®, etc.). Aunque en los últimos años se han comunicado diversos trabajos que intentan aportar un beneficio de los trocares “eléctricos” sobre los manuales clásicos, en la actualidad, todavía los trocares más utilizados derivan del original de aplicación manual diseñado por Jamshidi (**Figura 1**)⁽⁵⁻⁷⁾. Es importante saber (como ya se ha comentado en el capítulo 1) que la terminología anglosajona denomina *trephine biopsy* o *core biopsy* a nuestra BMO, para diferenciarla de la *aspiration biopsy*, que sería el equivalente a nuestro aspirado de médula ósea, motivo este de algún comentario por nuestra parte en la literatura⁽⁸⁾.

Antes de proceder a realizar una BMO, debemos tener en cuenta lo siguiente: 1) que el paciente ha sido informado convenientemente de lo que se le va a hacer y con qué finalidad, así como de los pormenores del procedimiento, y que firme un consentimiento informado avalado por las normas actuales de buena práctica clínica (si no estuviera capacitado, lo debe firmar el tutor legal del mismo) (**Anexo I**); 2) realizar una breve anamnesis para conocer los detalles clínicos del paciente (resulta fundamental preguntar sobre alergias conocidas y medicación actual, sobre todo antiagregantes y anticoagulantes); 3) conocer los resultados más recientes de pruebas básicas de laboratorio (hemograma, examen de un frotis



Figura 1. Trocar de tipo Jamshidi y sus componentes. De izquierda a derecha: pinza de captura, camisa enmangada de borde distal cortante, trocar, fiador-medidor.



Figura 2. Material necesario para la biopsia de médula ósea.

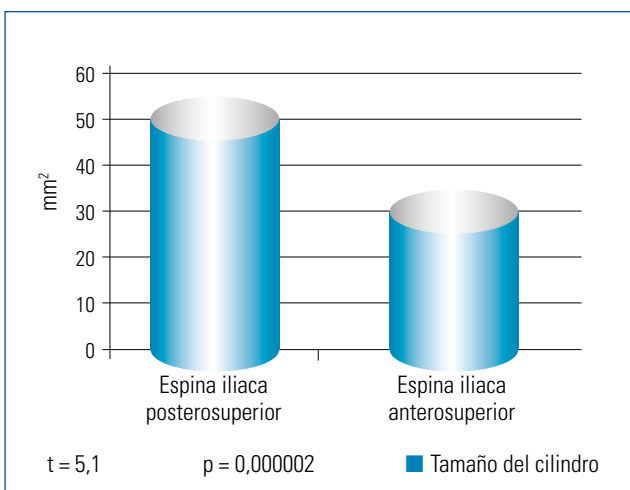


Figura 3. Diferencia en la superficie de cilindros obtenidos de espina iliaca anterosuperior y posterosuperior⁽⁹⁾.

de sangre y pruebas básicas de hemostasia); 4) que el médico solicitante de la prueba deje claramente establecido en la petición de BMO el diagnóstico o sospecha diagnóstica, lo cual reforzará la indicación de su realización y ayudará a una más correcta interpretación de los hallazgos histopatológicos; y 5) que el laboratorio disponga de un protocolo de actuación que permita la identificación correcta e inequívoca de las muestras y su trazabilidad, con la participación y el conocimiento del conjunto de los profesionales implicados (hematólogos, patólogos, enfermeros, técnicos, auxiliares y administrativos).

2. Procedimiento

La técnica de BMO con el trocar de Jamshidi o variantes de uso generalizado, conforme a nuestro habitual proceder, consta de los siguientes pasos:

1. Realización del procedimiento con medidas estándar de asepsia (lavado de manos, guantes y campo estériles), no siendo en general necesario habilitar un quirófano (salvo que, ocasionalmente, queramos aprovechar que se realiza otro procedimiento quirúrgico para realizar nosotros la BMO). En la **Figura 2** se puede observar un set de material necesario para realizar la prueba.

2. El lugar anatómico habitual donde proceder a la extracción del pequeño cilindro óseo es la espina iliaca posterosuperior, si bien puede realizarse alternativamente en la espina iliaca anterosuperior. Por nuestra experiencia preferimos la primera, habiendo demostrado que en ella la punción es mejor tolerada por el paciente (menos dolorosa) y que proporciona muestras de mayor longitud y mayor área de sección histológica (**Figura 3**)⁽⁹⁾. Colocación del paciente, por tanto, en decúbito prono, dejando al descubierto la zona lumbar y sacra, delimitada con los campos estériles. Conviene mencionar que, según las escuelas, otros autores prefieren la colocación del paciente en decúbito lateral (posición fetal)⁽¹⁰⁾.

3. Antes de empezar, se debe comprobar que el embalaje del trocar no esté abierto o dañado, que no se haya cumplido el plazo de caducidad y que el calibre del mismo sea el adecuado a la edad del paciente (generalmente 8 gauges para adultos y 11 para niños).



Figura 4. Se practica una mínima incisión en la piel sobre la espina iliaca posterosuperior.



Figura 5. Se ancla el conjunto del trocar en la cortical.

4. Se procederá a la desinfección de la zona de la piel que se va a tocar y puncionar con una gasa empapada en povidona yodada o clorhexidina, aplicada a la altura de ambas espinas iliacas posterosuperiores.

5. Aplicamos con aguja y jeringa un anestésico local (en nuestro caso, utilizamos mepivacaína) en el punto de la piel donde se vaya a puncionar, desde el periostio hasta la piel, por planos. Dejamos actuar el fármaco al menos 5 minutos antes de proseguir.

6. Con ayuda de un bisturí de punta afilada (no roma) realizaremos una pequeña incisión de 2-3 mm (no mayor porque no se dan puntos de sutura al finalizar) en la piel, justo en el punto de aplicación de la anestesia, que permita introducir el trocar, el cual se introduce hasta tocar la cresta iliaca (**Figura 4**).

7. Una vez tenemos la seguridad de encontrarnos en el sitio apropiado, como punto de entrada



Figura 6. Una vez anclado el sistema, se extrae el trocar.



Figura 7. Con ayuda del fiador, se calcula la longitud del cilindro a obtener y, de acuerdo con ello, se introduce más o menos el dispositivo.

en el hueso, se penetra no más de medio centímetro con la punta del trocar, mediante movimientos de muñeca a izquierda y derecha, ejerciendo una presión "controlada" (**Figura 5**).

8. Una vez el trocar queda fijo en el hueso (debe quedar yerto, sostenido solo), se retirará el fiador y se seguirá penetrando lentamente unos 1,5-2,0 cm más. La experiencia, el sentido común y las condiciones del paciente (edad, obesidad, grado de tolerancia, etc.) ayudarán a establecer cuánto se debe penetrar, aunque algunos dispositivos de biopsia incluyen un fiador-guía milimetrado que puede resultar orientativo con esta finalidad (**Figuras 6 y 7**).

9. Una vez profundizado lo suficiente, se introduce el captador de la muestra hasta el tope (actualmente, en muchos casos terminado en una especie de "pinzas" o "valvas"), se dan varias vueltas de 360° al



Figura 8. Se introduce a fondo la pinza de captura y se separa el cilindro con movimientos de rotación de 360° del conjunto del trocar.



Figura 9. Pinza de captura, una vez extraída, que contiene el cilindro.



Figura 10. Se deposita la muestra sobre un portaobjetos para hacer improntas.

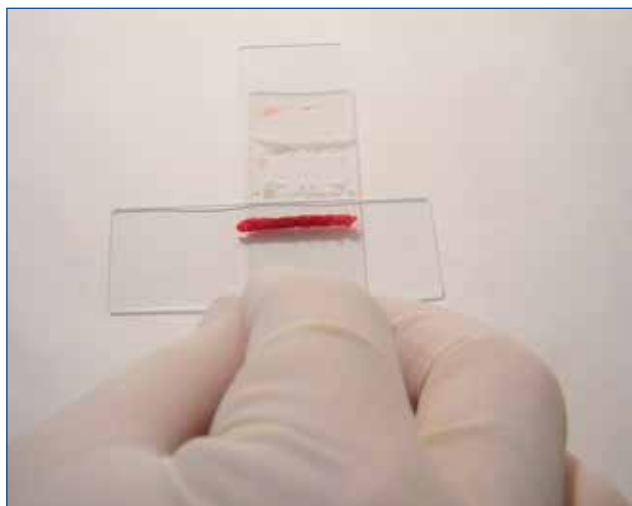


Figura 11. Se hacen improntas tocando sin presión con el cilindro en el portaobjetos.

mango del trocar alrededor del eje de la aguja y se retira todo el dispositivo en bloque con movimientos a izquierda y derecha, en dirección hacia fuera (**Figura 8**).

10. Justo al extraer el trocar, se aplicará presión con una gasa sobre el punto de punción para coartar pronto el posible sangrado.

11. Finalmente, se extrae la muestra del dispositivo captador y se deposita en un porta, se realizan improntas del cilindro óseo apoyando suavemente un segundo porta sobre la muestra y se introduce la muestra ósea en un tubo que contenga una solución fijadora para su procesamiento histológico (**Figuras 9 a 14**).

12. Al paciente se le aplicará un apósito estéril, que deberá tapar la zona puncionada durante 72 horas, permaneciendo seco y cambiándose por otro apósito estéril cuando se duche en este tiempo. Asimismo, debe guardar reposo en las 12-24 horas siguientes, para evitar sangrados diferidos, y tomar algún analgésico de tipo paracetamol (evitar los antiinflamatorios no esteroideos –AINE–), en casos de molestias posprocedimiento. Todos estos datos referidos a los cuidados posteriores se entregarán al paciente por escrito en un folio explicativo.

Entre los diferentes modelos de trocar disponibles en la actualidad que incorporan esta metodología de trabajo se encuentran el Safe-Cut®, el Goldberg Snarecoil®, el Best-Lisas®, etc.



Figura 12. Cilindro e improntas. El primero se sumerge en el fijador y las segundas se tiñen convencionalmente.



Figura 13. El cilindro medular una vez fijado.



Figura 14. Las preparaciones histológicas, dispuestas para su lectura.

¿Cuál se estima que debe ser la longitud adecuada de un cilindro óseo de biopsia? Si bien algunos autores recomiendan una longitud mínima de 1,6 cm para pacientes adultos antes del proce-

samiento⁽¹¹⁾, en nuestra opinión lo deseable es al menos 2,0 cm, siempre que sea posible. De este modo, aumenta de forma significativa la posibilidad de encontrar afectación medular en caso de lesiones focales (por ejemplo, en caso de linfomas, metástasis o enfermedades granulomatosas). Sin embargo, en ocasiones podemos diagnosticar una metástasis (por ejemplo, de un carcinoma), por lo específico de la patología y con ayuda de técnicas inmunohistoquímicas, en un escaso medio centímetro de muestra; por el contrario, muestras superiores a 2,0 cm pueden no darnos una respuesta, aunque esta última circunstancia es realmente excepcional. En general, cuando en vez de centímetros hablamos de espacios medulares intertrabeculares, se considera que una muestra que contenga al menos 5 espacios es suficiente en la mayoría de las enfermedades hematológicas. Debemos tener en cuenta que el patólogo trabajará más cómodamente y con mayor seguridad y precisión diagnóstica cuanto mayor sea el tamaño de la muestra.

3. Contraindicaciones y posibles complicaciones

La técnica de BMO no tiene prácticamente contraindicaciones, a excepción de pacientes con trombopatías o coagulopatías graves. Solo en caso de trombopenia grave (cifra de plaquetas inferior a $20 \times 10^9/L$), sobre todo en situaciones en las que se prevea que pueda existir alguna dificultad añadida en la extracción (por ejemplo, obesidad), para evitar riesgos hemorrágicos se puede transfundir un concentrado de plaquetas, justo antes de realizar la prueba.

En caso de pacientes que estén tomando antiagregantes (ácido acetilsalicílico, clopidogrel, etc.), estos deben suspenderse un tiempo prudencial antes de la realización de la BMO, generalmente 4-5 días; si el paciente toma anticoagulantes orales clásicos (acenocumarol, warfarina) o nuevos anticoagulantes orales de acción directa, bastará con que los suspenda desde el día antes. Cuando el riesgo trombótico que provocó la administración de estos fármacos sea muy alto, se debe administrar

mientras tanto heparina de bajo peso molecular a dosis ajustadas a cada caso. Reintroduciremos el antiagregante o el anticoagulante oral una vez se considere que ha pasado el riesgo hemorrágico asociado a la prueba, habitualmente 12-24 horas. Con todo, pueden existir pacientes anticoagulados a dosis completas en los que esté contraindicado suspender la medicación, en cuyo caso habrá que reconsiderar la indicación, retrasar su realización o valorar la posibilidad de que el aspirado medular pueda suplir razonablemente a la BMO.

La BMO constituye una técnica extraordinariamente segura en manos experimentadas. En la mayor parte de las ocasiones las molestias son muy leves y mayormente relacionadas con la “quemazón” que provoca el anestésico local, el sangrado en el punto de punción (generalmente cesa tras unos minutos comprimiendo con una gasa estéril) o el dolorimiento que puede persistir uno o varios días, sobre todo dependiendo de lo “limpia” y poco difícil que haya sido la prueba (para ello, se suele aconsejar que el paciente tome paracetamol oral).

Se han comunicado complicaciones graves muy excepcionalmente, como la hemorragia retroperitoneal, que suele requerir de una solución que puede ser endovascular (embolización de la arteria sangrante por parte de un angiorradiólogo) o quirúrgica⁽¹²⁻¹⁴⁾; algún caso se ha descrito que ha revertido lentamente con una actitud expectante. Con todo, puede resultar fatal y, de hecho, el fallecimiento de un paciente en el Reino Unido en 2001 como consecuencia de una hemorragia retroperitoneal después de practicarle un aspirado y una biopsia medulares en la cresta iliaca posterior llevó a la realización de una encuesta nacional auspiciada por la British Society of Haematology (BSH), que analizó retrospectivamente las complicaciones asociadas a estos procedimientos⁽¹⁵⁾. En posteriores encuestas y ya de forma totalmente prospectiva, se recogieron la totalidad de las complicaciones ocurridas en 2002⁽¹⁶⁾ y posteriormente en 2003⁽¹⁷⁾. En el 60-70% de los casos el procedimiento incluyó la realización en el mismo acto de aspirado y biopsia. Teniendo en cuenta los 3 trabajos⁽¹⁵⁻¹⁷⁾, se deduce que la posibilidad de que tenga lugar un efecto adverso importante asociado a la realización de una punción

medular en el Reino Unido oscila entre un 0,05 y un 0,12%.

La complicación más frecuente y generalmente más seria es la hemorragia, que puede incluso requerir de transfusión sanguínea. Entre los factores de riesgo asociados a una mayor probabilidad de sangrar de forma grave se encuentran el diagnóstico de una enfermedad mieloproliferativa crónica, el tratamiento con ácido acetilsalicílico y la existencia de una trombopatía o de trombopenia de otra naturaleza. Otros factores de riesgo recogidos son la obesidad⁽¹⁸⁾, el tratamiento anticoagulante oral o con heparina, la enfermedad de von Willebrand, la insuficiencia renal crónica⁽¹⁹⁾ y la coagulación intravascular diseminada. La combinación de varios de estos factores conlleva un aumento significativo de este riesgo de sangrado.

La infección en el lugar de punción es una complicación rara y generalmente se relaciona con neutropenia o disfunción de los neutrófilos, asociados más frecuentemente a neoplasias mieloides (leucemias agudas y síndromes mielodisplásicos). La rotura del trocar en el interior del hueso (**Figura 15**), antiguamente una eventualidad posible (2 casos en nuestra experiencia de más de 30 años), es cada vez más infrecuente si se usan los nuevos trocates con sistema de captura, que no requieren de movimientos de desprendimiento manual de la pieza de biopsia. De forma muy aislada, se han descrito otras complicaciones como posibles (siembra del tumor en el tracto de recorrido subcutáneo del trocar, neuropatías compresivas por hematomas, rotura de la cresta iliaca, neumorretroperitoneo, etc.).

4. Otras consideraciones

4.1. ¿Anestesia local o sedación?

Existe abundante literatura que ha profundizado en diferentes aspectos del dolor asociado a la realización de la BMO y en cómo disminuirlo al máximo. Existe la idea de que el primer paso que puede contribuir a reducir la ansiedad y la sensación dolorosa consiste en facilitar una comunicación fluida y aportar una infor-



Figura 15. Un problema excepcional en la toma de biopsia de médula ósea (BMO) en espina iliaca anterosuperior: radiografía de pelvis que muestra el fragmento distal del trocar roto en el acto de la BMO.

mación adecuada al paciente⁽²⁰⁾. Otro aspecto a tener en cuenta es que, ya sea de modo objetivo o subjetivo, el paciente percibe de diferente manera el dolor dependiendo de la persona que realiza la BMO⁽²⁰⁾.

Es conocido que los anestésicos locales de la familia de la lidocaína producen dolor debido a su pH bajo (cerca de 4,0) y la irritación tisular y excitación de terminales nerviosos que esta solución ácida produce. Se ha intentado disminuir las molestias asociadas a la administración local del anestésico mediante la alcalinización y el calentamiento del fármaco, pero los resultados no son concluyentes en cuanto a un beneficio real⁽²¹⁾ y, en nuestra propia experiencia, de hecho es muy limitado.

Mientras que no existe ninguna duda acerca de la utilización de sedación en pacientes pediátricos para paliar el dolor asociado al procedimiento (ya sea con midazolam, propofol, fentanilo, etc.), en adultos lo más extendido es aplicar solo anestesia local. Sin embargo, diversos grupos han propuesto que se realice algún tipo de sedación o anestesia general para esta prueba también en la población adulta, basándose, entre otros, en que el estado de ansiedad del paciente pueda tener un efecto significativo en el grado de dolor percibido asociado a la BMO⁽²²⁾. Uno de los productos ensayados con este

fin ha sido el óxido nitroso en inhalación, aprovechando el beneficio analgésico y sedativo que ha proporcionado en otros procedimientos invasivos menores (por ejemplo, biopsia hepática percutánea o biopsia prostática transrectal), con resultados variables⁽²³⁻²⁵⁾. Otros autores propugnan mayor beneficio con midazolam junto con anestesia local, si bien previenen que hay que monitorizar la función respiratoria (un 19% de los pacientes de la serie desaturaron por debajo del 90%, lo cual complica mucho el procedimiento)⁽²⁶⁾.

Por último, también se ha utilizado la música (musicoterapia) para aliviar la ansiedad y el dolor asociados a la técnica de BMO⁽²⁷⁾.

4.2. ¿Aspirado de médula ósea y biopsia de médula ósea con el mismo trocar?

Aunque en algún caso, con fines de ahorro, se ha podido realizar la aspiración medular usando el mismo trocar de biopsia, esta práctica debería evitarse, siendo preferible la extracción de ambas muestras de forma separada, con 2 trocares independientes, como demuestra algún estudio diseñado al respecto⁽²⁸⁾. Resulta innecesario decir que es crucial

obtener muestras de calidad para establecer diagnósticos correctos y la muestra de biopsia, cuando previamente se ha aspirado con el mismo trocar, puede proporcionar cilindros artefactualmente hipocelulares, denudados de celularidad.

4.3. ¿Biopsia de médula ósea bilateral?

Históricamente, se han llevado a cabo BMO bilaterales en el estudio de extensión y eventualmente en el seguimiento de linfomas (Hodgkin y no Hodgkin) y ciertos tumores sólidos (neuroblastoma, sarcoma de Ewing, carcinoma pulmonar de células pequeñas). Sin embargo, en la actualidad su práctica se ha visto reducida considerablemente y, a falta de trabajos más concluyentes que justifiquen claramente la ventaja de la BMO bilateral, la tendencia es a realizar BMO unilaterales. Con todo, algunos profesionales, basados en protocolos diagnósticos y de seguimiento de sociedades o grupos científicos, la solicitan (por ejemplo, neuroblastoma pediátrico).

En el caso del linfoma de Hodgkin, se ha comunicado que la posibilidad de cambiar el tratamiento cuando se hace BMO bilateral es inferior al 5%⁽¹⁰⁾. Una aproximación sensata a este tema podría ser la aportada por la Dra. Barbara Bain: "Un compromiso razonable, contrapesando las molestias del paciente y la probabilidad de obtener información extra útil, sería medir el tamaño del primer cilindro de biopsia y realizar una segunda BMO, preferiblemente en la cresta iliaca contralateral, cuando la longitud del primero sin procesar sea inferior a 1,6 cm y el resultado de la segunda BMO pueda cambiar el tratamiento del paciente"⁽¹⁰⁾. Sin embargo, en los últimos años la llegada de la tomografía por emisión de positrones/tomografía axial computarizada (PET/TAC) ha cambiado el escenario y, así, diversos trabajos (incluido el publicado recientemente por un grupo de hematólogos y especialistas de medicina nuclear españoles) demuestran que la PET/TAC puede sustituir a la BMO para investigar la afectación medular en pacientes con linfoma de Hodgkin⁽²⁹⁾, hasta el punto de que muchos oncólogos y hematólogos ya no la solicitan de rutina en esta enfermedad.

Mayor controversia existe en cuanto a que la PET/TAC pueda sustituir a la BMO en pacientes diagnosti-

cados de linfoma no Hodgkin difuso de células grandes y, de hecho, aún se sigue practicando la biopsia medular en estos pacientes. Lo que sí parece claro es que un único cilindro de al menos 2,0 cm, examinando al menos 4 cortes histológicos, puede ser suficiente, obviándose la bilateralidad de la prueba⁽³⁰⁾.

4.4. Biopsia de médula ósea en niños

La BMO puede realizarse en niños en la espina iliaca posterosuperior sin problemas; una modificación de la técnica aplicable a la tibia ha sido descrita para la realización de BMO en neonatos⁽³¹⁾. En cuanto a la longitud del cilindro, en el caso de los niños, por razones obvias, resulta más complicada de estimar; entre otros motivos, debido a que la presencia de cartílago es difícil de evitar y este disminuye considerablemente el rendimiento diagnóstico de la prueba. En el caso del neuroblastoma, se ha sugerido que una muestra apropiada es la que mide al menos 0,5 cm de médula ósea bien conservada^(32,33). Para el European Neuroblastoma Study Group, esta longitud del cilindro es muy dependiente del profesional que realiza la prueba y apunta que la tasa de obtención de muestras inadecuadas en los niños llega a ser del 36% por este motivo⁽³⁴⁾.

5. Bibliografía

1. Ghedini G. Studi sulla patologia del midello osseo umano vivente. I. Puntura esplorativa tecnica. Clin Med Ital. 1908;47:724-7.
2. Dameshek W. Marrow biopsy technics. Blood. 1948;3:209.
3. McFarland W, Dameshek W. Biopsy of bone marrow with the Vim-Silverman needle. JAMA. 1958;166:1464-6.
4. Lawson S, Aston S, Baker L, Fegan CD, Milligan DW. Trained nurses can obtain satisfactory bone marrow aspirates and trephine biopsies. J Clin Pathol. 1999;52:154-6.
5. Jamshidi K, Swaim WR. Bone marrow biopsy with unaltered architecture, a new biopsy device. J Clin Lab Med. 1971;77:335-42.
6. Swords RT, Kelly KR, Cohen S, Miller LJ. Rotary powered device for bone marrow aspiration and biopsy yields excellent specimens quickly and efficiently. J Clin Pathol. 2010;63:562-5.

7. Miller LJ, Philbeck TE, Montez DF, Puga TA, Brodie KE, Cohen SC, et al. Powered bone marrow biopsy procedures produce larger core specimens, with less pain, in less time than with standard manual devices. *Hematology Reports*. 2011;3:e8.
8. Raya JM. Megaloblastosis. *N Engl J Med*. 1996;335:2000.
9. Hernández-García MT, Hernández-Nieto L, Pérez-González E, Brito-Barroso ML. Bone marrow trephine biopsy: anterior superior iliac spine versus posterior superior iliac spine. *Clin Lab Haematol*. 1993;15:15-9.
10. Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol*. 2001;54:737-42.
11. Bishop PW, McNally K, Harris M. Audit of bone marrow trephines. *J Clin Pathol*. 1992;45:1105-8.
12. Pedersen LM, Jarner D, Winge J. Bone marrow biopsy of the iliac bone followed by severe retroperitoneal hemorrhage. *Eur J Haematol*. 1993;51:52.
13. Luoni M, Croci E, De Paoli A, Fava S, Grimi E, Tocci A, et al. Retroperitoneal hemorrhage following bone marrow biopsy. *Haematologica*. 1994;79:70-2.
14. Arellano-Rodrigo E, Real MI, Muntanola A, Burrel M, Rozman M, Fraire GV, et al. Successful treatment by selective arterial embolization of severe retroperitoneal hemorrhage secondary to bone marrow biopsy in post-polycythemic myelofibrosis. *Ann Hematol*. 2004;83:67-70.
15. Bain BJ. Bone marrow biopsy morbidity and mortality. *Br J Haematol*. 2003;121:949-51.
16. Bain BJ. Bone marrow biopsy morbidity and mortality: 2002 data. *Clin Lab Haematol*. 2004;26:315-8.
17. Bain BJ. Bone marrow biopsy morbidity: review of 2003. *J Clin Pathol*. 2005;58:406-8.
18. Devaliaf V, Tudor G. Bone marrow examination in obese patients. *Br J Haematol*. 2004;125:538-9.
19. Gray N, Hawson G, Hollett P, Cluer A. Massive haemorrhage caused by a bone marrow aspirate and trephine (BMAT) procedure in a uraemic patient. *N Z Med J*. 2005;118:U1775.
20. Jaddini E, Hjortholm N, Snarski E. Effective pain reduction during bone marrow biopsy and aspiration – Technique over experience. *Acta Haematol Pol*. 2016;47:226-31.
21. Kuivalainen AM, Ebelingb F, Rosenberg P. Warmed and buffered lidocaine for pain relief during bone marrow aspiration and biopsy. A randomized and controlled trial. *Scand J Pain*. 2014;5:43-7.
22. Kuivalainen AM, Pitkäniemi J, Widenius T, Elonen E, Rosenberg P. Anxiety and pain during bone marrow aspiration and biopsy. *Scand J Pain*. 2012;3:92-6.
23. Kuivalainen AM, Ebelingb F, Poikonenb E, Rosenberg P. Nitrous oxide analgesia for bone marrow aspiration and biopsy – A randomized, controlled and patient blinded study. *Scand J Pain*. 2015;7:28-34.
24. Gudgin EJ, Besser MW, Craig JI. Entonox as a sedative for bone marrow aspiration and biopsy. *Int J Lab Hematol*. 2008;30:65-7.
25. Steedman B, Watson J, Ali S, Shields ML, Patmore RD, Allsup DJ. Inhaled nitrous oxide (Entonox) as a short acting sedative during bone marrow examination. *Clin Lab Haematol*. 2006;28:321-4.
26. Chakupurakal G, Delgado J, Nikolousis E, Pitchapillai S, Allotey D, Holder K, et al. Midazolam in conjunction with local anaesthesia is superior to Entonox in providing pain relief during bone marrow aspirate and trephine biopsy. *J Clin Pathol*. 2008;61:1051-4.
27. Shabanloei R, Golchin M, Esfahani A, Dolatkah R, Rasoulilian M. Effect of music therapy on pain and anxiety in patients undergoing bone marrow and aspiration. *AORN J*. 2010;91:746-51.
28. Islam A. Bone marrow aspiration before bone marrow core biopsy using the same bone marrow biopsy needle: a good or bad practice? *J Clin Pathol*. 2007;60:212-5.
29. Chen-Liang T, Martín-Santos T, Jerez A, Senent L, Orero MT, Remigia MJ, et al. The role of bone marrow biopsy and FDG-PET/CT in identifying bone marrow infiltration in the initial diagnosis of high grade non-Hodgkin B-cell lymphoma and Hodgkin lymphoma. Accuracy in a multicenter series of 372 patients. *Am J Hematol*. 2015;90:686-90.
30. Campbell JK, Matthews JP, Seymour JF, Wolf MM, Juneja SK; Australian Leukemia Lymphoma Group. Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2003;14:273-6.
31. Sola CM, Rimsza LM, Christensen RD. A bone marrow biopsy technique suitable for use in neonates. *Br J Haematol*. 1999;107:458-60.
32. Reid MM, Roald B. Adequacy of bone marrow biopsy specimens in children. *J Clin Pathol*. 1996;49:226-9.
33. Reid MM, Roald B; European Neuroblastoma Study Group. Deterioration in performance in obtaining bone marrow trephine biopsy cores from children. *J Clin Pathol*. 1999;52:851-2.
34. Reid MM, Roald B; European Neuroblastoma Study Group. Bone marrow trephine biopsy in infants. *Arch Dis Child*. 1997;77:60-1.

ANEXO I. DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA BIOPSIA DE MÉDULA ÓSEA

(Tomado en parte del recomendado por la Fundación Española de Hematología y Hemoterapia y, en parte, del utilizado en el Hospital Universitario de Canarias)

Apellidos:

Nombre:

N.º de historia clínica:

Fecha:

Finalidad

Obtener una muestra de hueso esponjoso, concretamente del hueso de la cadera denominado iliaco para examinar al microscopio la médula ósea, cuyo estado puede ser muy importante para el correcto diagnóstico y/o valoración evolutiva de mi enfermedad.

Descripción del proceso

En primer lugar, se administrará un anestésico local. Si Vd. es alérgico a estos preparados debe comunicárselo a su médico. A continuación, se procederá a la punción y extracción de un pequeño cilindro de hueso.

Efectos secundarios

En el momento de la punción puede notar algo de dolor en el lugar de la misma. En la zona de la biopsia puede quedar un hematoma o cardenal pasajero. En la experiencia de una serie de más de 3.000 biopsias medulares, solo se dieron 3 casos de crisis convulsiva en personas predispuestas y 2 casos de rotura del trocar de biopsia en el interior del hueso, resueltos con facilidad.

Riesgos personalizados

Derivados de la situación particular de cada paciente (cumplimentar si procede):

Declaraciones y firmas

• Declaración del enfermo:

He sido informado por el médico después mencionado, con vocabulario comprensible de:

- Las ventajas e inconvenientes del procedimiento arriba señalado.
- Las posibles alternativas al mismo.
- Que en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento.

He comprendido la información recibida, que consta en la primera parte de este documento y he podido formular todas las preguntas que he creído oportunas:

- Confirmando no haber presentado reacciones a anestésicos locales y que no me consta ser alérgico/a a los mismos.
- Estoy satisfecho/a con la información recibida y he entendido totalmente este documento de consentimiento.

Nombre: Firma:

• Declaración del médico que ha informado al paciente:

Nombre: Firma:

• Declaración del familiar, persona allegada o representante legal, en su caso, de que han recibido la información por incompetencia del paciente:

Nombre: Firma:

• Declaración del testigo en su caso:

Nombre: Firma:

Metodología de fijación, decalcificación e inclusión de biopsias de médula ósea.

Tinciones histoquímicas estándar recomendables

Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, José Luis Carrasco Juan

1. Introducción

En este capítulo se describe y comenta, sistemáticamente, la manipulación de la biopsia de médula ósea, desde su extracción del paciente, hasta la realización de las tinciones histológicas de los tejidos, previas al montaje de la preparación y su observación al microscopio. Para ello, se consideran de forma sucesiva los siguientes apartados: 1) uso de fijadores tanto en su forma pura como en mezclas; 2) decalcificación de las muestras; 3) revisión de protocolos de fijación y decalcificación más usuales; 4) tipos de inclusión para cortes histológicos, con especial énfasis en la inclusión en parafina; y 5) tinciones histológicas convencionales o de mayor uso en biopsias de médula ósea.

2. Líquidos fijadores

2.1. Características generales

Los fijadores son productos o soluciones que interrumpen procesos de degradación tras la muerte celular, tratando de conservar la arquitectura y la composición celulares lo más parecidas posible a como lo estaban en el organismo vivo⁽¹⁾.

Entre las múltiples acciones de los fijadores, sus características más generales se centran en^(1,2):

- Bloquear la autólisis, una vez que el tejido se ha separado del organismo vivo (material de biop-

sia) o después de la muerte (material de necropsia). Producen coagulación o floculación de las proteínas con interrupción de la acción de las enzimas lisosomales de la célula. Importa el tamaño de la muestra y las propiedades del fijador utilizado, que establecen su velocidad de penetración y de fijación para la preservación del tejido.

- Acción bactericida, no permitiendo la actuación de gérmenes de la putrefacción.

- Eludir retracciones o distorsiones estructurales de los tejidos, en buena medida dependiente de la presión osmótica entre los constituyentes del tejido y los de la solución fijadora.

- Promover cambios en la textura de la muestra, que faciliten su inclusión, corte y tinción. En cuanto a lo último, los fijadores pueden aumentar el grado de tinción del colorante, que variará según el tipo de tejido, lo que determina que no exista un fijador universal idóneo, sino que hay que escoger dentro de una gama de ellos en razón de la especificidad del tipo de tejido y de estudio.

En el estudio de biopsias de médula ósea, al igual que ocurre con otros tejidos, conviene distinguir entre fijadores simples y mezclas fijadoras.

2.2. Fijadores simples

Para el estudio de biopsias de médula ósea existen líquidos o soluciones que aisladamente realizan su

función fijadora, por lo que pueden ser utilizados independientemente y sin precisar mezclas con otros fijadores. Analizaremos a continuación los de mayor uso⁽¹⁻³⁾.

2.2.1. Formaldehído o formol

En estado puro se trata de un gas tóxico e irritante para las mucosas que, disuelto en agua al 35-40% con metanol, se denomina formalina, formaldehído en solución concentrada o simplemente formol. Usualmente se utiliza diluyendo 1 parte en 9 de agua, que es lo que se conoce comúnmente como formol al 10% (en realidad al 3,5-4%). Es el mejor fijador universal.

Su mecanismo de acción consiste en promover la desnaturalización de las proteínas, por rotura de puentes de hidrógeno, induciendo la formación de una malla reticular polipeptídica (reticularización proteica).

- Tipos de formol más específicos para médula ósea:

- Formol tamponado:

- Formalina pura (100 mL) + fosfato sódico monobásico (4 g) + fosfato sódico bibásico anhidro (5-6 g) + agua destilada (900 mL).

- Formaldehído ácido:

- Formalina al 10% (990 mL) + ácido acético glacial (10 mL) a pH 2.

- Ventajas:

- Fijador barato y buen desinfectante.

- Adecuada fijación, preservando detalles nucleares y celulares.

- Compatibilidad con la mayoría de las tinciones histoquímicas.

- Aceptable capacidad de penetración en el tejido.

- Preserva para el estudio inmunohistoquímico.

- Inconvenientes:

- Produce vapores irritantes para la mucosa nasal y conjuntival.

- La luz y el oxígeno atmosférico lo transforman lentamente en ácido fórmico, que diluye la imagen de núcleos celulares. Es recomendable su almacenaje en frasco opaco o el uso de solución tamponada.

- La utilización prolongada o la hemólisis, debido a la reducción de la hemoglobina, produce precipitados cristalinos parduscos (pigmento formólico o hematina ácida del formaldehído).

2.2.2. Ácido pícrico

Comercialmente es un producto en forma de agujas cristalizadas de color amarillo. En solución saturada al 2% actúa precipitando proteínas celulares y formando picratos con apetencia por colorantes ácidos.

- Ventajas:

- Sus características hacen que sea un fijador mejor para la médula ósea que el formol.

- Tiene acción decalcificante y preserva lípidos y glúcidos.

- Razonable penetración y buena velocidad de fijación del tejido.

- Buen fijador de estructuras proteicas de los tejidos.

- Solución estable de fácil almacenamiento.

- Inconvenientes:

- En estado puro, el ácido pícrico sometido al calor resulta explosivo.

- Tiñe a los tejidos de color amarillo y, de no ser eliminado, deteriora progresivamente los tejidos, por lo que se recomienda el lavado del tejido en alcohol etílico al 70-80%.

- El exceso de tiempo de fijación produce retracciones tisulares.

2.2.3. Cloruro mercurio

Comercialmente se trata de un producto en polvo que, en solución acuosa, combina iones de mercurio con proteínas tisulares formando proteinatos metálicos.

- Ventajas:

- Fijador idóneo en médula ósea por preservar de forma particular detalles morfológicos de núcleos y células.

- Resalta los colores del núcleo y el citoplasma de las células, por su efecto "mordiente".

- Inconvenientes. Aunque son pocas pero excelentes las ventajas de este fijador, existen bastantes inconvenientes que pueden evitarse con una cuidadosa y adecuada manipulación:

- Fijador altamente tóxico y poco bactericida.
- Escasa penetración en los tejidos, lo cual requiere muestras que no rebasen los 5 mm de grosor (no es el caso de los cilindros óseos por trefina).
- El exceso de fijación retrae y endurece los tejidos. Particularmente, en biopsias de médula ósea no se debe sobrepasar las 4 horas de fijación.
- Producción de precipitados metálicos que alteran el examen microscópico de los tejidos.
- Provoca intensa eosinofilia celular que dificulta la valoración de necrosis de los tejidos.

2.3. Mezclas fijadoras

La combinación de fijadores simples en mezclas fijadoras tiene por finalidad mejorar la acción individualizada de los mismos y reducir sus inconvenientes. Para biopsias de médula ósea, analizaremos las mezclas formolizadas de ácido pícrico y de cloruro mercuríco con sus variantes.

2.3.1. Mezclas de ácido pícrico y formol (líquido de Bouin)

Se trata de solución fijadora que mejora la acción de la formalina y evita el posible endurecimiento de las muestras cuando se utiliza sublimado.

- Tipos de fijadores de Bouin:
 - Solución de Bouin:
 - Ácido pícrico al 1-2% en agua destilada (350 mL) + formalina concentrada (250 mL) + ácido acético glacial (50 mL), a pH \approx 2,2.
 - Solución de Bouin-Hollander, especial para biopsia de médula ósea:
 - Ácido pícrico (40 g) + formol concentrado (100 mL) + ácido acético glacial (15 mL) + acetato neutro de cobre (25 g) + agua destilada (1.000 mL), a pH 2.
- Ventajas:

- No excesivo control de fijación, entre 4 y 48 o 72 horas. Por encima de estos tiempos, la muestra se endurece dificultando el corte histológico.

- Inconvenientes:
 - Para decolorar y eliminar el efecto pernicioso del ácido pícrico, se recomienda lavado de la muestra en alcohol (70%).

2.3.2. Mezclas de cloruro mercuríco y formol (soluciones de B5 y Zenker-formol)

Ambas mezclas son similares. La solución de Zenker-formol contiene además dicromato potásico y sulfato sódico.

- Tipos de fijadores:
 - Solución de B5:
 - Solución *stock* de B5: cloruro mercuríco (12 g) + acetato sódico (2,5 g) + agua destilada (200 mL).
 - Solución de trabajo de B5: solución *stock* de B5 (20 mL) + formalina concentrada (2 mL).
 - Solución de Zenker-formol:
 - Solución de *stock* de Zenker: cloruro mercuríco (5 g) + dicromato potásico (2,5 g) + sulfato sódico (1 g) + agua destilada (1.000 mL).
 - Solución de trabajo de Zenker: solución *stock* de Zenker (95 mL) + formalina concentrada (5 mL).
- Ventajas:
 - Ideal para tejidos linfoides o hematopoyéticos con inmejorable tinción nuclear, que nos permite precisar sus detalles más finos, tales como hendiduras o repliegues nucleares y nucleolos, lo que resulta de gran importancia en la tipificación de linfomas y leucemias.
- Inconvenientes:
 - El tiempo de fijación no debe exceder las 4 horas para evitar el endurecimiento de la muestra.
 - Por su escasa capacidad de penetración, el espesor de la muestra no debe superar los 4 mm.
 - La solución es inestable, debido a que el formaldehído reduce el sublimado a cloruro mercuríco y mercurio metálico, con depósitos blancogrisáceos que dificultan el examen histológico de la muestra. Por consiguiente, las secciones histológicas, antes de ser coloreadas, deben ser tratadas (dezenkerización con solución yodada de Lugol).

– Todos los inconvenientes del cloruro mercuríco.

3. Decalcificación de las muestras

Tiene por objetivo la eliminación de sales cálcicas de los tejidos tras su fijación eludiendo artefactos de tratamiento, así como efectos perniciosos sobre la tinción. En lo que a biopsias de médula ósea se refiere, distinguimos 2 grupos de decalcificantes, ácidos y quelantes químicos^(1,3).

3.1. Soluciones decalcificantes ácidas

3.1.1. Soluciones con ácidos fuertes

Se trata de soluciones acuosas de ácido nítrico o solución de formalina y ácido nítrico. Producen rápida decalcificación, aunque en muestras de médula ósea alteran particularmente el tejido hematopoyético, dificultando la tinción nuclear (especialmente solución formol-nítrico), por lo que no es recomendable en este tipo de biopsia.

3.1.2. Soluciones con ácidos débiles

Solución acuosa y tamponada de ácido fórmico recomendable para médula ósea. Tiene el efecto de preservar bastante bien la imagen global del tejido y, en lo que al tejido hematopoyético concierne, los detalles celulares. El tiempo de decalcificación es aceptable (24 horas). Al final del proceso, se aconseja la neutralización del ácido con sulfato sódico al 5% (1 hora), antes de su proceso de inclusión en parafina.

3.1.3. Soluciones fijadoras con poder decalcificante

Ya conocidas, como las soluciones de Bouin, Bouin-Hollander y Zenker-acético. Todas ellas poseen débil capacidad decalcificante, por lo que son útiles para la decalcificación de cilindros óseos de esponjosa, ricos en médula ósea.

3.2. Decalcificación por quelantes químicos

Tienen por misión capturar iones calcio del hueso y formar compuestos solubles en agua. El quelante de mayor uso es el EDTA (ácido etilen-diamino-tetraacético). Es un decalcificante ideal por evitar artefactos de fijación del tejido.

4. Protocolos de fijación y decalcificación en médula ósea

Existen diversos y su uso o aplicación está en función de la experiencia que tengan con ellos los distintos laboratorios. En el estudio de biopsias de médula ósea por trefina existen diferentes combinaciones, entre las que se encuentran las siguientes^(1,3,4).

4.1. Fijación en solución B-5 y decalcificación en líquido de Zenker-acético

- Solución de trabajo de B5:
 - Solución de *stock* B5 (20 mL) + formaldehído 35-37% (2 mL).
- Solución de Zenker-acético:
 - Solución de *stock* Zenker (90 mL) + ácido acético glacial (9 mL).
- Operación:
 - Fijación de médula ósea en fresco (solución B5) 4 horas.
 - Cambio a Zenker-acético hasta decalcificación (entre 1 y 7 días).
 - Lavado en agua (entre 1 y 24 horas).
 - Neutralización en sulfato sódico al 5% (1 a 2 horas).
 - Lavado en agua (entre 1 y 2 horas).
 - Si se interrumpe la inclusión, conservar en etanol al 70%.

4.2. Fijación en solución B-5 y decalcificación en EDTA (kit de médula ósea de Micron)

- Solución modificada de B5 (reactivo A).
- EDTA (reactivo B).

- Operación:
 - Fijación de médula ósea en reactivo A (10 mL) durante 2 horas.
 - Si la muestra llega tarde y no es posible la fijación en reactivo A, sumergir la muestra en alcohol etílico al 70%, indefinidamente.
 - Inmersión en el reactivo B (10 mL) durante 2 horas.
 - Comprobar el grado de decalcificación con lanceta, cada 30 min.
 - Inclusión rutinaria.

4.3. Fijación en solución B5 y decalcificación en ácido fórmico

- Solución de trabajo de B5.
- Solución tamponada de ácido fórmico:
 - Solución A: citrato sódico al 20% (500 mL).
 - Solución B: ácido fórmico (500 mL).
- Operación:
 - Fijar muestra en B5, entre 2 y 4 horas.
 - No hacer biopsias los viernes (salvo cuando pueda incluirse el sábado).
 - Usar mezcla de soluciones A y B a partes iguales, durante 24 horas.
 - Lavar en agua 1 hora.
 - Sumergir en sulfato sódico 5% durante 1 hora.
 - Lavar en agua 1 hora.
 - Inclusión rutinaria.

4.4. Fijación en solución de Bouin y decalcificación en ácido fórmico

- Solución de Bouin o Bouin-Hollander:
 - Agua destilada (100 mL) + acetato neutro de cobre (4 g) + ácido pícrico (4 g) + filtrado de la solución + formalina concentrada (10 mL) + ácido acético glacial (1,5 mL).
- Solución tamponada de ácido fórmico:
 - Solución A: citrato sódico (200 g) + agua destilada (1.000 mL).
 - Solución B: ácido fórmico (500 mL) + agua destilada (500 mL).
- Operación:

- Fijar en solución Bouin (4 a 24 horas).
- Decolorar en alcohol etílico 50-70% (1 hora).
- Sumergir en decalcificador (A + B) (18 a 24 horas).
- Lavar en agua destilada (1 hora).
- Sumergir en sulfato sódico 5% (1 hora).
- Lavar en agua destilada (1 hora).
- Inclusión rutinaria.

5. Inclusión de las biopsias de médula ósea

Para el estudio de biopsia de médula ósea se describen básicamente 2 sistemas de inclusión del tejido: infiltración en parafina e inclusión en plástico (metacrilato). Existen diferentes tipos de plástico para inclusión; así, en biopsias de médula ósea, las resinas más comúnmente empleadas son el glicolmetacrilato y el metilmetacrilato; al parecer, la primera con mejores resultados. El sistema de inclusión en metacrilato ofrece indudables ventajas, como evitar la decalcificación, con lo que preserva excelentemente detalles celulares evitando retracciones por artefactos, que pueden ser bastante marcados en muestras de biopsias sometidas a decalcificación.

Nosotros, en la biopsia de médula ósea, preferimos la inclusión rutinaria por una serie de razones ya argumentadas por otros^(1,2,3,5,6):

- Las muestras pueden ser sometidas al procesado automático de rutina de cualquier laboratorio de anatomía patológica.
- La manipulación técnica es menos laboriosa y costosa que inclusiones en plástico.
- El procesado de la muestra no es tan lento.
- Al margen de consideraciones estéticas, el rendimiento diagnóstico de la inclusión en parafina es equiparable a inclusiones en plástico, siempre que se sigan debidamente las pautas de preparación de la muestra, fruto de una buena relación entre el hematólogo (ejecutor de la biopsia), el patólogo (que observa y estudia el tejido) y el personal de laboratorio (que manipula la muestra). En suma, que se sucedan con la debida atención los distintos pasos de la preparación de la muestra: adecuada

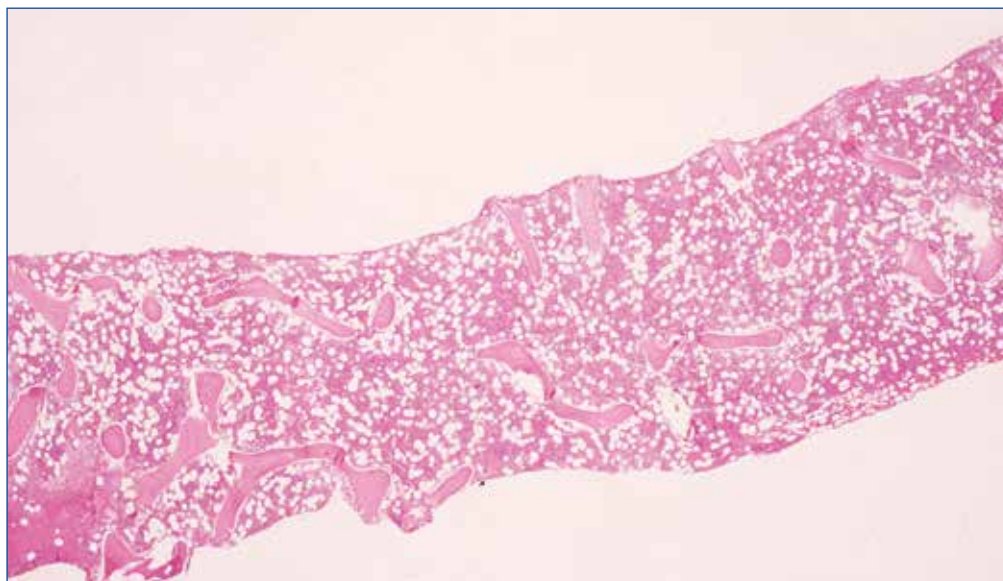


Figura 1. Visión panorámica de un cilindro de biopsia de médula ósea con la tinción de hematoxilina-eosina (HE \times 4).

obtención de la biopsia, fijación, decalcificación, inclusión en parafina, secciones o cortes (3-4 μ m de grosor) y tinción.

- La inclusión en parafina admite mejor la posibilidad de tinciones histoquímicas de cierta especificidad patológica: plata-metenamina (hongos), Ziehl-Neelsen (micobacterias), rojo Congo (amiloide), etc.
- Las técnicas inmunohistoquímicas, fundamentales en patología linfóide o hematopoyética, son más fácilmente aplicables que en las inclusiones en plástico.
- Las biopsias incluidas en parafina y convenientemente archivadas pueden ser sometidas secundariamente a otras técnicas o estudios especiales, como la citometría de flujo y biología molecular mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR), entre otras, lo que no es posible con la inclusión en plástico, aunque el patólogo está menos familiarizado con este tipo de técnica de inclusión.

6. Tinciones histológicas comunes en biopsias de médula ósea

Sobre secciones de biopsia de médula ósea tenemos establecido de rutina en nuestro laboratorio el uso de las tinciones de: hematoxilina-eosina (HE), Giemsa y reticulina de Wilder. Nosotros también usamos asiduamente la tinción del PAS-hematoxi-

lina. Con cierta frecuencia y dependiendo de las circunstancias que lo requieran, se pueden usar otras técnicas histoquímicas específicas según el tipo de patología, como pueden ser: el tricrómico de Masson (para valorar la fibrosis colágena), la tinción de Perls o azul de Prusia (para la detección del hierro férrico), el rojo Congo (para la sustancia amiloide), el Ziehl-Neelsen (para la observación de micobacterias), la plata-metenamina (para estructuras micóticas), etc. Comentaremos la aplicación de las técnicas histoquímicas más importantes y sus peculiaridades histológicas para el diagnóstico de la patología de la médula ósea.

6.1. Tinción de hematoxilina-eosina

Es el tipo de tinción rutinaria de mayor entidad en biopsia de médula ósea, aunque algunas escuelas europeas de hematopatología lo han sustituido por el Giemsa (**Figuras 1 y 2**). Pensamos que la tinción de HE, en este tipo de biopsia, debe seguir conservándose por una serie de razones:

- Es una buena tinción para evidenciar el patrón de crecimiento o estructural de ciertas lesiones (nodular, trabecular o difuso, entre otros), particularmente en tumores no hematopoyéticos.
- En tumores metastásicos resulta idónea, bien por la gama de colores o contraste de la tinción, así

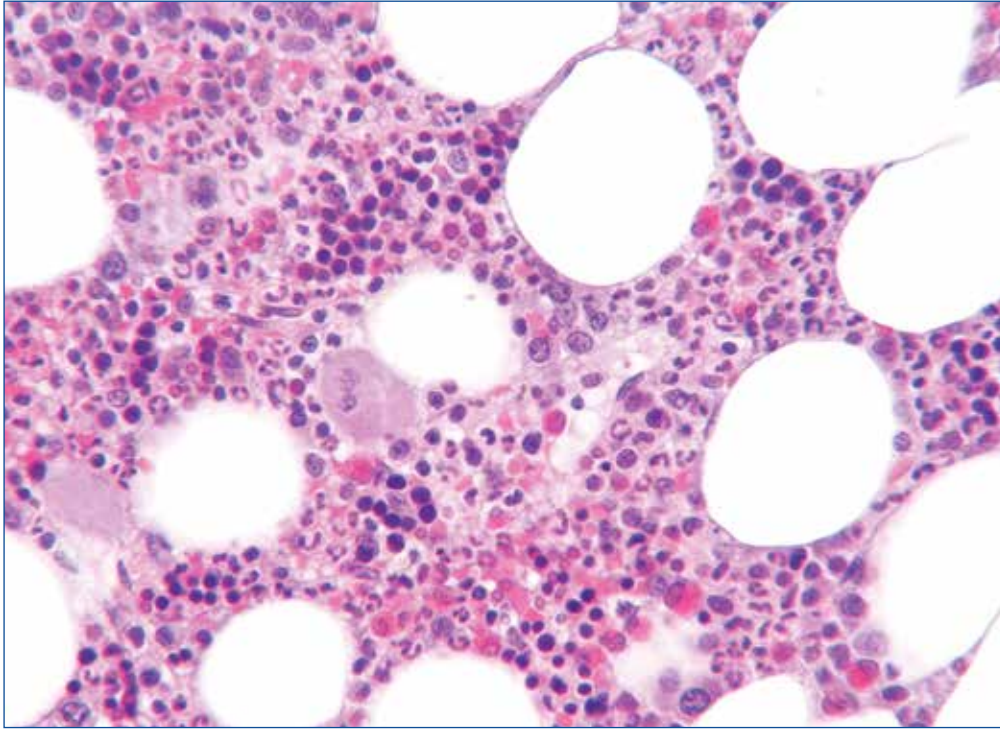


Figura 2. Se distinguen los elementos celulares de las 3 series, entre los que sobresalen las células grandes (megacariocitos), granulocitos eosinófilos y nidos eritroblásticos de la serie roja (HE $\times 400$).

como por el hábito del patólogo para interpretar los procesos morbosos mediante este tipo de técnica.

- Hay peculiaridades citológicas de la tinción que facilitan el diagnóstico, como puede ser la eosinofilia de los nucleolos de las células de Reed-Sternberg y de Klima en la enfermedad de Hodgkin, o los matices de basofilia citoplasmática como expresión de diferenciación plasmocítica de ciertos elementos celulares, entre otros.

6.2. Tinción de Giemsa

Ya se ha mencionado la importancia de este tipo de tinción, que nos permite valorar detalles nucleares mejor que con otro tipo de técnica histológica, particularmente de elementos celulares hematopoyéticos. Nuestra opinión al respecto ya ha sido reflejada y pensamos que ambas técnicas deben ser complementarias en el estudio de la biopsia de médula ósea. Otras ventajas que aporta la tinción de Giemsa en médula ósea pueden ser^(1,3):

- Se contrasta y valora idóneamente el infiltrado granulocitario eosinofílico, de nidos eritroblásticos y neutrófilos (segmentados y cayados) (Figuras 3 y 4).

- Por ser una tinción metacromática, nos permite detectar mastocitos y patología afín (mastocitosis) (Figura 5).

- Peculiar tinción azul verdosa a ciertos histiocitos (síndrome del histiocito azul marino).

- Tiñe levemente el armazón reticular de la médula ósea.

6.3. Tinción de reticulina

Habitualmente, se utilizan tinciones argénticas de tipo reticulina de Wilder o Gomori, con o sin contratinción nuclear. Nosotros tenemos experiencia con la primera y preferimos utilizar la reticulina “con núcleo”, ya que nos permite valorar la relación de las células con el estroma medular. La tinción de la reticulina debe estar instaurada en la rutina de análisis de biopsia de médula ósea por diversas razones^(1,3,5):

- Permite detectar mínimos refuerzos de la trama reticular de la médula ósea por patología diversa.

- Facilita la observación de anomalías focales del estroma (motivadas por infiltrados linfoides, granulomas, etc.), poco perceptibles por otras técnicas. En este sentido, importa en la estadificación de linfomas,

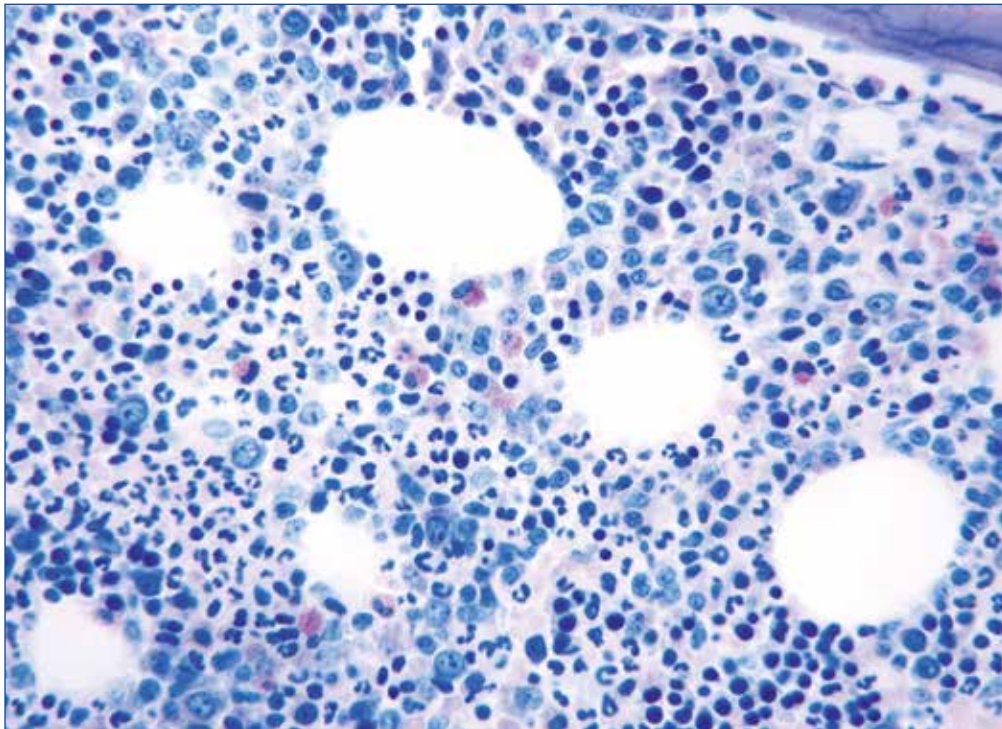


Figura 3. En la tinción destacan los nidos eritroblásticos con núcleos homogéneamente hipercromáticos, neutrófilos y granulocitos eosinófilos (Giemsa $\times 400$).

como ocurre en los linfomas foliculares, en los que la característica afectación paratrabecular se sospecha en algunos casos por el refuerzo de fibras aun en ausencia de células linfoides, lo que requeriría secciones histológicas para excluir afectación linfomatosa.

- Resulta imprescindible en la valoración de la mielofibrosis, particularmente en la fase inicial o hiperplásica.
- Para evaluar la pérdida de la arquitectura medular o el reconocimiento de nódulos linfoides de

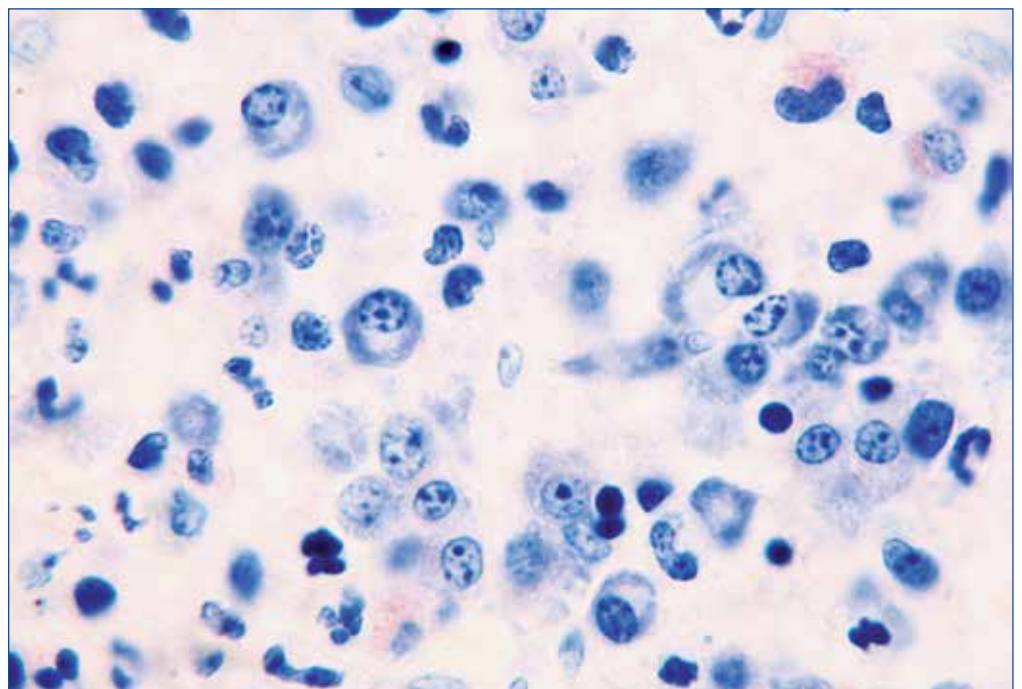


Figura 4. Detalle de plasmocitos maduros perivascular, con un área clara semilunar yuxtannuclear, que se acompañan de linfocitos y granulocitos eosinófilos, entre otros (Giemsa $\times 1.000$).

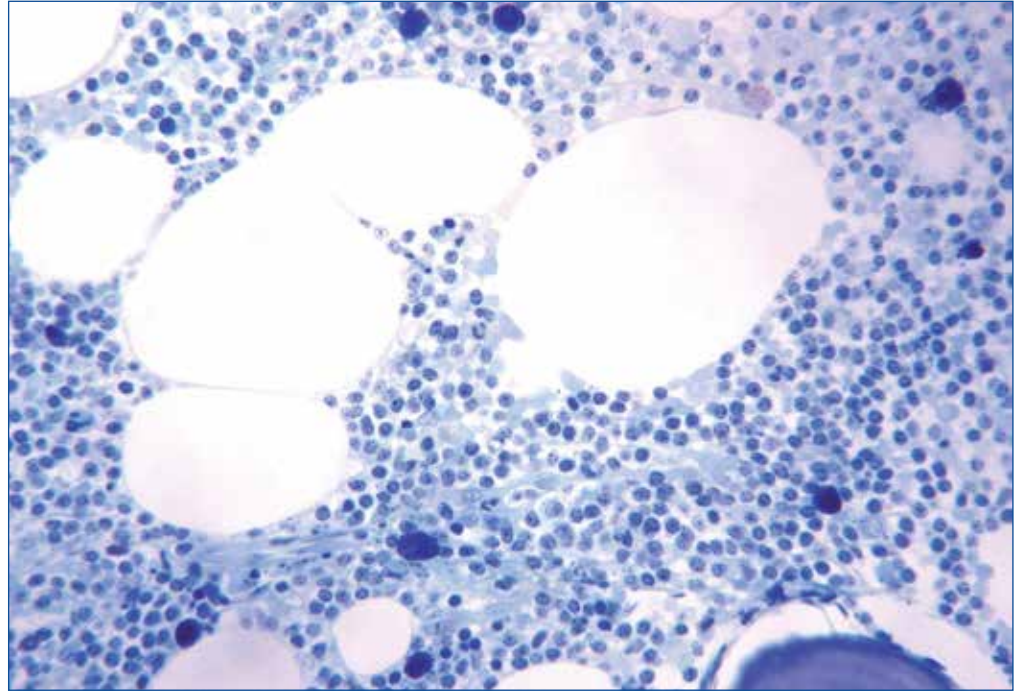


Figura 5. Mastocitos de coloración azul oscura dispersos entre infiltrado linfoide medular, en un caso de inmunocitoma (Giemsa $\times 400$).

carácter reactivo o neoplásico, dato este último bastante cuestionado por algunos⁽⁴⁾.

- Permite estudiar más adecuadamente la ectasia sinusoidal y su distribución con respecto a megacariocitos.

La valoración de posible aumento de la trama reticular (fibrosis reticulínica) intersticial de la médula ósea establece grados de fibrosis en razón de su observación con distintos objetivos y el ocular ($\times 10$) del microscopio (Figuras 6 a 8):

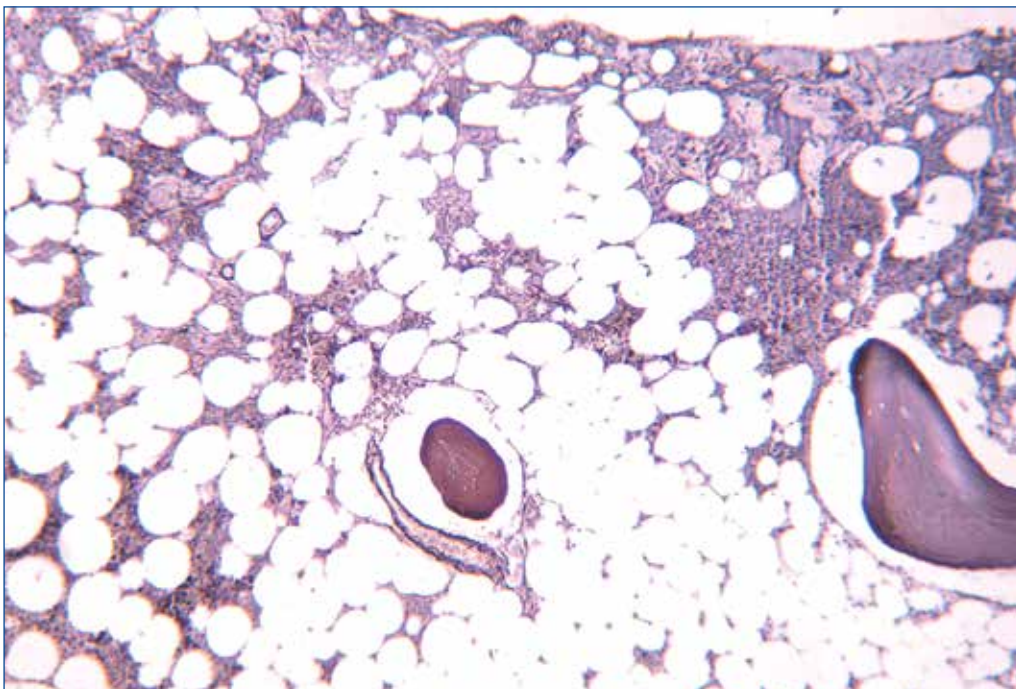


Figura 6. Médula ósea sin fibrosis intersticial. Las fibras solo se distinguen en torno a vasos (reticulina de Wilder $\times 50$).

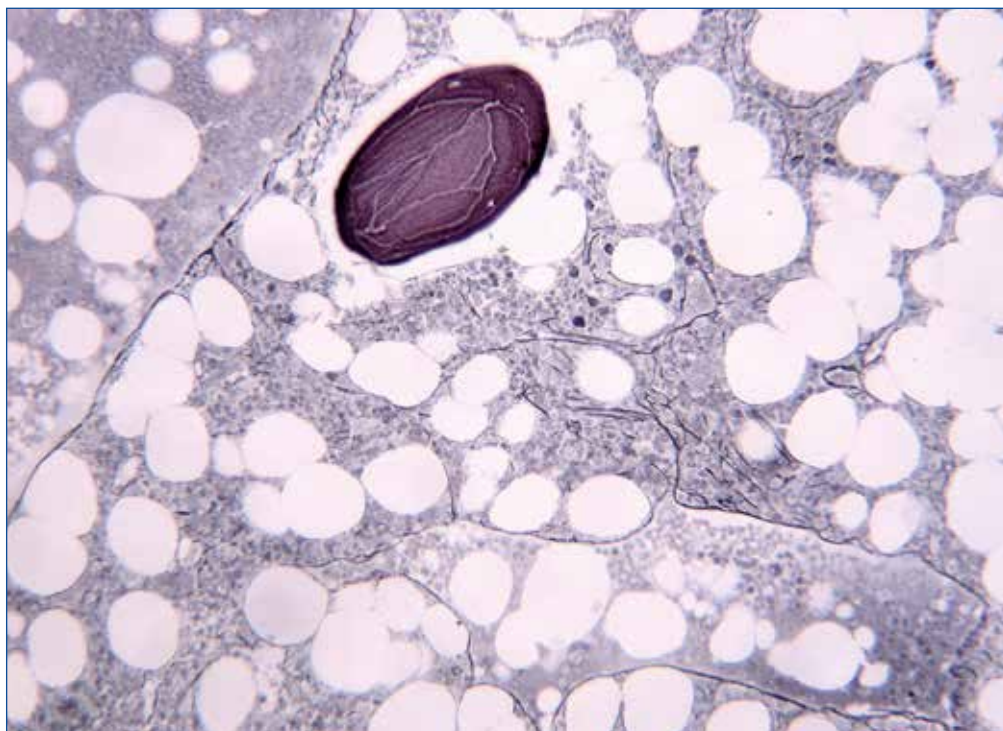


Figura 7. Médula ósea con fibrosis de grado 1 o leve. Se detectan fibras intersticiales y ectasia sinusoidal (reticulina de Wilder $\times 100$).

- Grado 0: no se observan fibras en el estroma con el objetivo de 4-10 ($\times 40$ -100).
- Grado 1: pueden ya observarse algunas fibras con el objetivo de 10 ($\times 100$).

- Grado 2: se aprecia notorio incremento de fibras con el objetivo de 10 ($\times 100$).
- Grado 3: se evidencian abundantes fibras con el objetivo pequeño de 5 ($\times 50$).

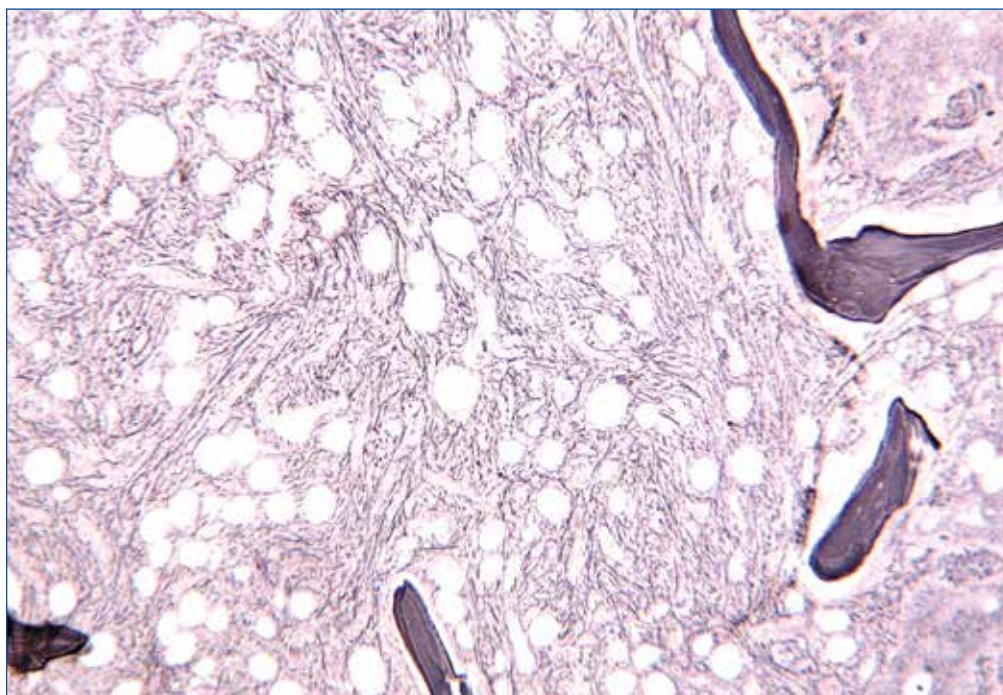


Figura 8. Marcado aumento de fibras intersticiales a pequeño aumento (reticulina de Wilder $\times 50$).

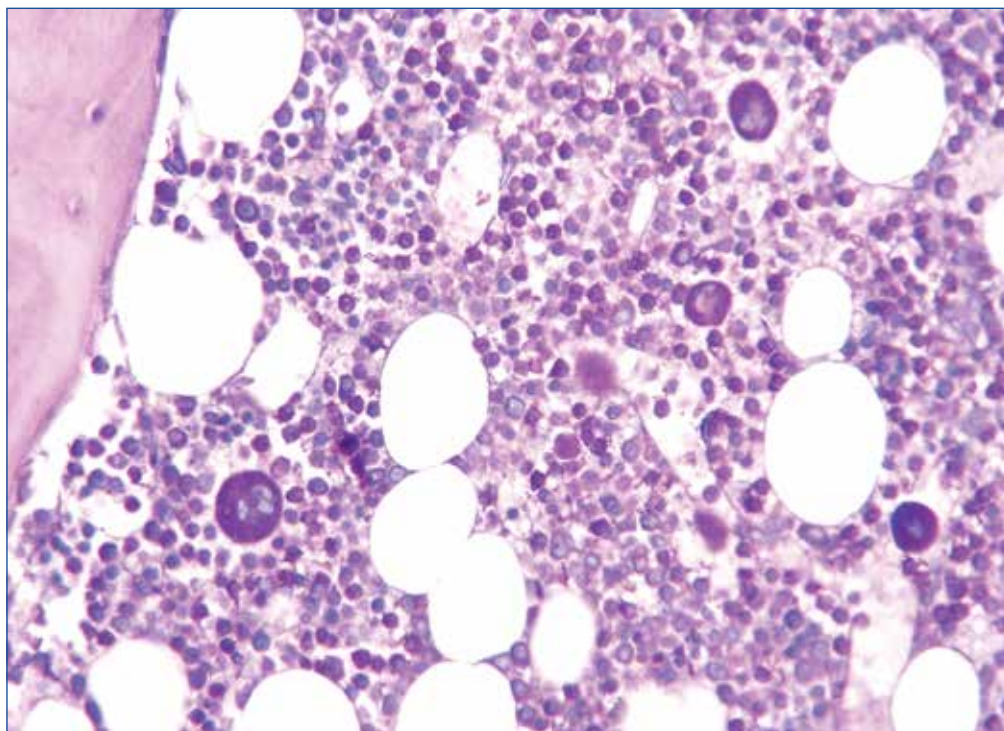


Figura 9. Se comprueba PAS positividad de granulocitos y, menos uniformemente, en megacariocitos (PAS-hematoxilina $\times 200$).

6.4. Tinción del PAS

La tinción de solución del ácido periódico (PAS) con tinción nuclear (hematoxilina de Harris) o PAS-hematoxilina resulta una técnica que nosotros hemos introducido en la rutina de nuestros estudios de biopsia de médula ósea, por las siguientes razones^(1,3,5) (**Figura 9**):

- La fibrosis medular, cuando adquiere cierta relevancia (moderada o severa), es detectable en esta tinción con mayor constancia, aunque con peor calidad que con técnicas argénticas de la reticulina, las cuales son más lábiles y propensas a precipitados en los tejidos. Por lo tanto, la técnica del PAS, al teñir fibras, nos sirve de control de la reticulina de Wilder.
- Tiñe granulocitos maduros, con lo que nos da una idea aproximada sobre su cantidad con respecto a la serie roja, que es PAS negativa.
- Constituye un corte histológico más, lo que incrementa la posibilidad de no eludir patología aleatoria, como es la presencia de nódulos linfoides ocasionales.
- La tinción del PAS es de ayuda en gran número de casos con patología diversa de la médula ósea:

- Facilita el rastreo de nódulos o pequeños infiltrados linfoides, debido a que los linfocitos son PAS negativos.

- La celularidad blástica mieloide suele ser PAS negativa y nos da una idea de su proporción con respecto a la serie granulocítica madura.

- Tiñe carbohidratos complejos que son captados por el sistema reticuloendotelial.

- En síndromes linfoproliferativos permite identificar inclusiones PAS positivas de inmunoglobulinas de linfomas secretores.

- Tiñe estructuras micóticas en casos de afectación medular por micosis sistémica.

- En enfermedad metastásica de la médula ósea, preferentemente en la detección de metástasis de carcinomas mucosecretores (PAS +), tanto bien diferenciados (adenocarcinomas) como pobremente diferenciados (carcinomas de células en anillo de sello).

6.5. Tinción tricrómica de Masson

Tinción para las fibras de colágena con la alternativa de colorearlas de verde (utilizando solución de verde luz al 2%) o azul (solución de azul de anilina o

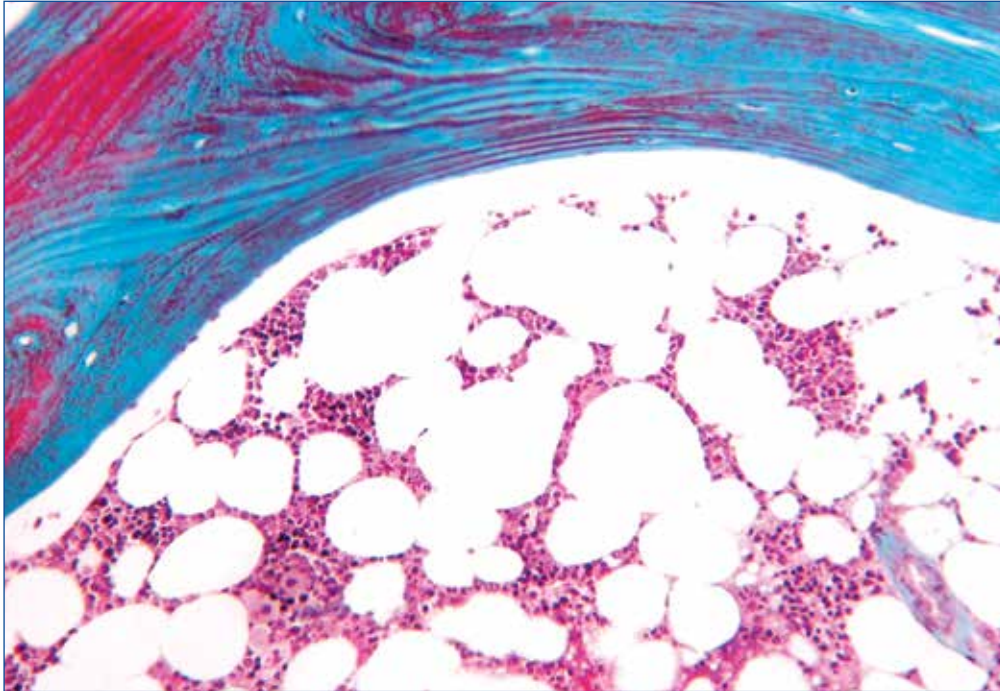


Figura 10. En la biopsia normal se aprecia laminación trabecular del hueso, de color verde por su contenido en colágeno, al igual que en la adventicia de vasos medulares (tricrómico de Masson $\times 100$).

metileno), siendo el fijador ideal para esta técnica la solución de Bouin. No puede considerarse una tinción histoquímica usual en biopsia de médula ósea, aunque al margen de sus buenos resultados estéticos tintoriales, resulta útil en^(1,3) (Figuras 10 a 12):

- Valoración de mielofibrosis avanzada con sus implicaciones pronósticas.
- Apreciación de fibrosis cicatricial por patología diversa (enfermedad de Hodgkin, microfracturas y erosiones óseas).

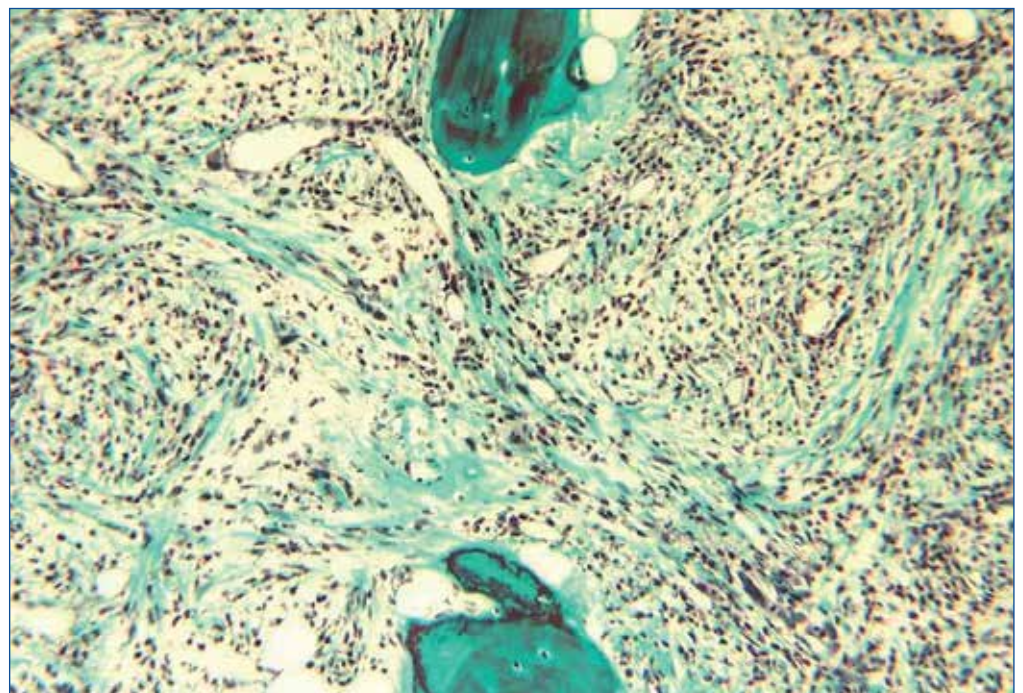


Figura 11. Apolillamiento y pérdida de la laminación de trabéculas, en un caso de mieloma (tricrómico de Masson $\times 100$).

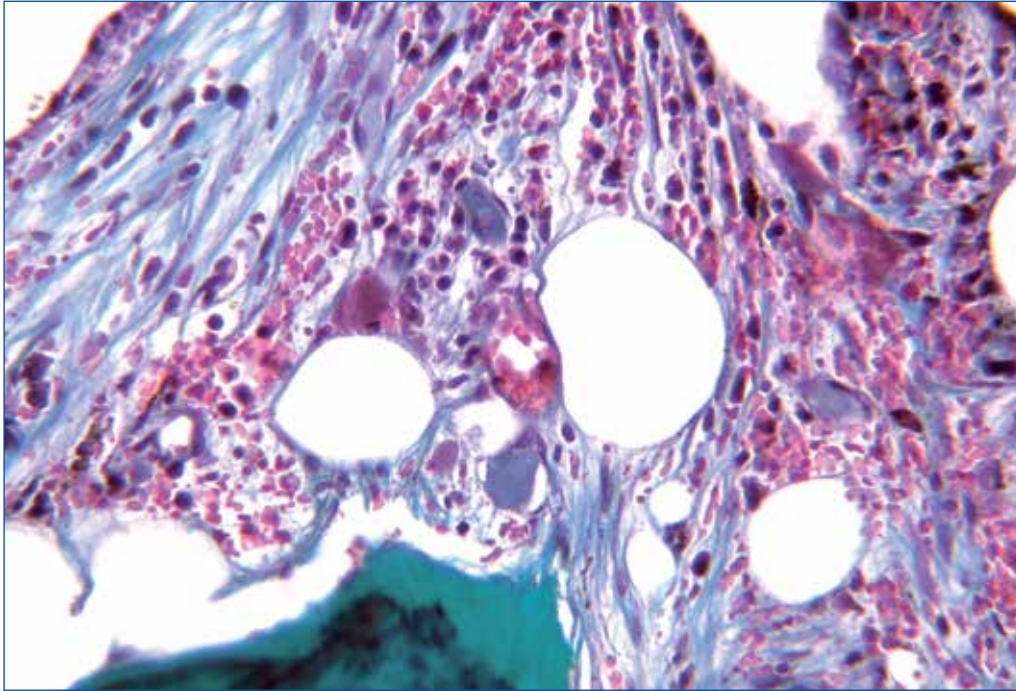


Figura 12. Fibras de colágeno verdosas en el intersticio, en un caso de mielofibrosis con osteoesclerosis (tricromico de Masson $\times 400$).

- Evaluación de alteraciones de la trama ósea y de necrosis medular.
- Tipificación de sustancias o productos patológicos en médula ósea (material amiloide, fibrinoide, etc.).

6.6. Tinción de Perls (azul de Perls)

La reacción de azul de Prusia de Perls para la detección de hierro férrico es la tinción más importante para observar la hemosiderina, pigmento proteico

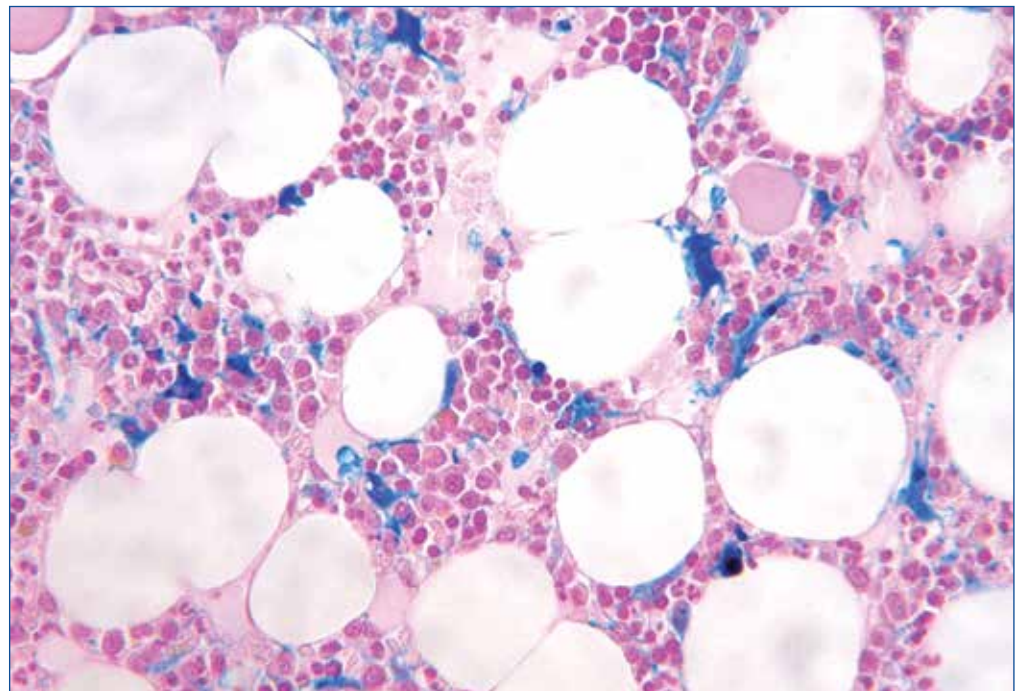


Figura 13. Detalle de células reticulohistiocitarias con contenido en hemosiderina, en un caso de hemosiderosis (Perls $\times 400$).

que contiene hidróxido férrico, que ofrece coloración amarillo-dorado o pardusca con la tinción de HE, mientras que se colorea de azul por el Perls (**Figura 13**). Se trata de una técnica o tinción que tiene difícil justificación en el estudio rutinario de biopsias de médula ósea, si bien tiene utilidad en casos concretos en los que la muestra de aspirado es inadecuada para valorar depósitos de hierro medulares^(1-3,6-8). Hemos observado, mediante estudio semicuantitativo en biopsias de médula ósea, que, cuando los depósitos de hierro son detectables o intensos por tinción de Perls, hay correlación con los niveles séricos de ferritina e índice de saturación de la transferrina, lo que permitiría la valoración en ciertos casos de sobrecarga férrica en los pacientes⁽⁹⁾.

- Aunque poco sensible la tinción del Perls en biopsia de médula ósea con respecto al aspirado medular, su significativa positividad en biopsia debe considerarse como patológica (hemosiderosis). En contrapartida, la negatividad de la tinción en biopsia medular no permite discriminar entre normalidad y patología por déficit de hierro.

- Contrasta bastante bien la tinción en los infiltrados linfoides.

- Permite la distinción de la hemosiderina de otros pigmentos parduscos y no férricos que pueden presentarse en la médula ósea (ceroide, melamina, etc.).

7. Bibliografía

1. García del Moral R. Laboratorio de Anatomía Patológica. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de España; 1993.
2. Prophet EB, Mills B, Arrington JB, Sobin LH. Laboratory Methods in Histotechnology. Washington: AFIP; 1992.
3. Bancroft JD, Stevens A. Theory and practice of histological techniques. 3.^a ed. Edinburgh: Churchill-Livingstone; 1990.
4. Romagosa V. Biopsia de médula ósea: criterios generales de evaluación. En: Álvaro Naranjo T (ed.). Segundo Curso de Hematopatología. Tortosa: Coop. Graf. Dertosense; 1995.
5. Bain BJ, Clarck DM, Lampert IV, Wilkins BS. Bone marrow pathology. 3.^a ed. Oxford: Blackwell Science; 2001.
6. Allen DC, Cameron RI. Histopathology specimens: clinical, pathological and laboratory aspects. 2nd ed. London: Springer-Verlag; 2013.
7. Fong TP, Okalor LA, Thomas W, Westerman MP. Stainable iron in aspirated and needle biopsy specimens. Am J Hematol. 1977;2:47-51.
8. Stuart-Smith SE, Hughes DA, Bain BJ. Are routine iron stains on bone marrow trephine biopsy specimens necessary? J Clin Pathol. 2005;58:269-72.
9. Álvarez-Argüelles H, Raya Sánchez JM, García Hernández S, Martín Santos T, Brito Barroso ML, Martín Herrera A, Hernández Nieto L. Correlación entre los depósitos de hemosiderina en biopsia de médula ósea y marcadores séricos de hierro corporal: valoración de un método semicuantitativo de evaluación de la tinción de Perls. Rev Esp Patol. 2012;45:218-23.

Principales técnicas inmunohistoquímicas y sus aplicaciones

Mar García García

1. Introducción

El estudio inmunohistoquímico constituye una técnica muy útil y casi indispensable en el área de la hematopatología. En la biopsia de médula ósea sirve para confirmar o replantear el diagnóstico o diagnósticos considerados con la hematoxilina-eosina, así como para subclasificar las entidades.

El método se basa en la reacción específica antígeno-anticuerpo que nos permite identificar una proteína de interés (antígeno) mediante el reconocimiento de su unión con un anticuerpo dirigido contra ella. Esta unión se reconoce porque el anticuerpo se halla unido a una enzima (inmunohistoquímica enzimática) que, al reaccionar con su sustrato, da lugar a un producto de reacción que, a su vez, al reaccionar con una tercera sustancia (cromógeno), da lugar a un precipitado coloreado identificable con el microscopio⁽¹⁾. En las células hematológicas, algunas de estas proteínas nos permiten identificar la estirpe celular, otras el estadio madurativo dentro de esta estirpe y otras, finalmente, son de aparición anómala.

2. Tipos de anticuerpos

La propiedad más característica de los anticuerpos es su capacidad para unirse específicamente al antígeno que ha estimulado su formación. A la región del antígeno reconocida por un anticuerpo se la de-

nomina epítopo o determinante antigénico. Así, un antígeno puede presentar un número variable de epítomos.

Los anticuerpos pueden ser monoclonales o policlonales ([Anexo I](#)). Los **anticuerpos monoclonales** están dirigidos contra un solo epítopo del antígeno y, por lo general, son producidos en ratón por la “técnica del hibridoma” descrita por Köhler y Milstein en 1975⁽²⁾. En ella demostraron que las células plasmáticas obtenidas del bazo de ratones previamente inmunizados con el antígeno pueden ser cultivadas e inmortalizadas mediante la fusión con líneas celulares “inmortales” de mieloma murino, obteniéndose así un cultivo de células híbridas (hibridoma) que presentan características de los dos tipos celulares que han participado en la fusión, es decir, son células con capacidad de producción de inmunoglobulinas específicas para un antígeno determinado y son también células inmortales y, por tanto, con capacidad ilimitada de crecimiento. Los **anticuerpos policlonales** pueden reaccionar con varios de los epítomos presentes en un antígeno. El mecanismo de producción de estos anticuerpos es diferente. Se inmuniza un animal huésped, generalmente conejo, con una molécula específica (inmunógeno) en la que se encuentra el antígeno frente al cual se pretende obtener los anticuerpos. El animal produce numerosos clones de células plasmáticas. Cada clon sintetiza un anticuerpo con especificidad distinta para cada uno de los epítomos presentes en el inmunógeno o

antígeno. El antisuero contiene una mezcla de estos distintos anticuerpos.

En general, los anticuerpos monoclonales son más específicos y los policlonales más sensibles. Si bien conceptualmente podemos pensar que los monoclonales son mejores, no siempre pueden utilizarse con resultados óptimos, pues dependen enormemente del pretratamiento del tejido y de si los epítomos de interés pueden quedar dañados de forma irreversible por el procesamiento del tejido (inclusión en parafina). En estos casos, el uso de anticuerpos policlonales es muy útil. En los últimos años, se han introducido anticuerpos monoclonales de conejo en inmunohistoquímica. Estos anticuerpos combinan la alta especificidad de los anticuerpos monoclonales con una alta sensibilidad debido al mejor reconocimiento de los antígenos humanos por parte del sistema inmune de los conejos.

3. Técnica inmunohistoquímica

La técnica inmunohistoquímica es una técnica compleja en la que los resultados se hallan influenciados por múltiples procesos, sobre todo en las fases preanalítica y analítica, en especial la fijación, la decalcificación, la recuperación antigénica, la reacción antígeno-anticuerpo y la detección de esta reacción antígeno-anticuerpo.

3.1. Tiempo de isquemia fría y tallado

Se define como el tiempo que pasa entre que se obtiene el tejido y se pone en el fijador. Desde el momento de obtención del tejido, los epítomos empiezan a degradarse de forma irreversible. Idealmente, este tiempo debe ser el menor posible, inferior a una hora. En el examen macroscópico, el grosor del tejido seleccionado para estudio no debe ser superior a 3 mm.

3.2. Fijación

Este paso es clave para detener la degeneración de los tejidos, pero el fijador ideal no existe. La fija-

ción produce una alteración en la configuración molecular de algunos epítomos. El volumen de fijador y su estado, así como el tiempo de fijación, serán parámetros que influirán de forma directa en los resultados de las técnicas inmunohistoquímicas⁽³⁾. Algunos tipos de fijadores utilizados en patología son: fijadores que actúan por precipitación de proteínas (alcohol, acetona), fijadores que producen enlaces cruzados (formol, glutaraldehído) y mezclas fijadoras (B5, Bouin). El resultado puede ser inadecuado tanto por defecto como por exceso de fijación. Así, por ejemplo, una fijación incompleta con formaldehído dará como resultado una inmunotinción desigual (los bordes del tejido estarán fijados con formaldehído mientras que el centro del mismo se fijará con el alcohol utilizado durante el proceso de impregnación en parafina, puesto que este penetra más rápido y fijará la zona central no alcanzada por el formol), observándose el interior del tejido sin teñir y la periferia del mismo teñida o viceversa, según sea el antígeno buscado y el sistema de recuperación antigénica utilizado. Si la fijación ha sido demasiado prolongada puede existir un enmascaramiento irreversible de los antígenos a causa de excesivas reacciones cruzadas de las proteínas con el fijador. El formol al 4% tamponado a pH neutro es el fijador de elección para obtener buenos resultados con la mayoría de las técnicas inmunohistoquímicas. Una fijación de entre 12 y 24 horas es la óptima para cilindros de médula ósea del calibre habitual. Los fijadores que contienen mercurio como el B5 destruyen de manera irreversible algunos antígenos (por ejemplo, CD5 y TdT).

3.3. Decalcificación, impregnación en parafina y montaje de las secciones histológicas

Las biopsias de médula ósea, después de ser fijadas, deben ser decalcificadas. Los decalcificadores más utilizados son ácidos (nitríco, clorhídrico, tricloroacético, fórmico, cítrico, acético) y resinas de intercambio iónico (ácido etilendiaminotetraacético-EDTA-). La mayoría de los decalcificadores, si se utilizan a una concentración y durante un tiempo adecuados, no interfieren de manera decisiva

con las reacciones inmunohistoquímicas, pero sí que pueden interferir en las técnicas de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) o moleculares. Es crítico controlar el tiempo de decalcificación comprobando la dureza de la muestra con frecuencia y en ningún caso pecar por exceso, puesto que los antígenos pueden quedar dañados de manera irreversible. En los casos en que la muestra contenga tejido cortical en un extremo, puede ser incluso conveniente separarlo con el bisturí para que la decalcificación no se prolongue en exceso.

Una vez decalcificada la muestra, esta debe impregnarse con parafina, lo que suele realizarse en un procesador automático. Es muy importante comprobar la temperatura de los baños de parafina de manera periódica, puesto que un calor excesivo puede dañar los epítomos más termolábiles. Una vez confeccionados los bloques y realizadas las secciones, se tiene que tener en cuenta que estas deben adherirse de manera efectiva sobre los portaobjetos; para ello, la técnica más aconsejable es la utilización de cargas electrostáticas generadas tratando los portaobjetos con poli-L-lisina (se aconseja utilizar portaobjetos pretratados de origen comercial).

3.4. Desenmascaramiento antigénico

El desenmascaramiento antigénico consiste en eliminar o romper los enlaces que se han producido durante el proceso de fijación del tejido y que mantienen a los antígenos inaccesibles para el anticuerpo⁽⁴⁻⁶⁾. Es una etapa clave que influye de manera decisiva en la sensibilidad de la detección. Primero, es importante establecer cuál es el tipo de desenmascaramiento antigénico más adecuado para el epítomo de interés. El desenmascaramiento aplicado puede ser **enzimático o por calor**. En el primer caso, la acción de las enzimas puede modularse a través de su concentración, el pH de la solución, el tiempo y la temperatura utilizados. Las enzimas más empleadas son la pepsina, la tripsina, la pronasa, la neuraminidasa y la proteinasa K. En los métodos que utilizan calor, este puede generarse empleando una olla a presión, un microon-

das o un autoclave (nosotros recomendamos este último, pues permite un control más preciso de las temperaturas programadas). Los portaobjetos con las secciones histológicas son introducidos en la fuente de calor sumergidos en una solución tampón. La mayoría de los epítomos son poco sensibles a los cambios de pH de la solución, pero algunos de ellos solo pueden ser recuperados a un pH bajo (por ejemplo, los antígenos nucleares) y otros a un pH alto. Si a ello unimos el hecho de que algunos epítomos resisten mejor el calor que otros, nos encontramos con un amplio espectro de posibilidades que deben adaptarse al epítomo problema. Es decir, no hay un sistema universal de recuperación de antígenos, sino que debe utilizarse el más efectivo para cada tipo de epítomo teniendo en cuenta que el tipo de fijador y el tiempo de fijación influyen sobre el resultado (el tiempo de conservación de la muestra, aunque se halle incluida en parafina, también influye sobre la capacidad de detectar un epítomo)^(7,8) (**Figura 1**).

Los tampones más utilizados son citrato a pH 7,3, EDTA a pH 8 y Tris/EDTA a pH 9. Así pues, esta etapa puede resultar una de las que consume más tiempo y dedicación en un laboratorio de inmunohistoquímica. La industria de reactivos, consciente del problema, ha situado en el mercado máquinas para la inmunotinción que pueden realizar los diferentes protocolos de recuperación antigénica de manera automática.

3.5. Incubación con el anticuerpo primario y bloqueo de enzimas hísticas que pueden interferir en la visualización de la reacción antígeno-anticuerpo

Para cada anticuerpo se deben tener en cuenta la dilución óptima de trabajo, así como el tiempo y la temperatura de incubación. Además, se debe tener en cuenta que, si los anticuerpos no se utilizan durante un periodo prolongado de tiempo, la sensibilidad de los mismos disminuye y se debe aumentar la concentración y/o el tiempo de incubación. Por esta razón, se recomienda utilizar anticuerpos concentrados (son además más baratos) y solo di-

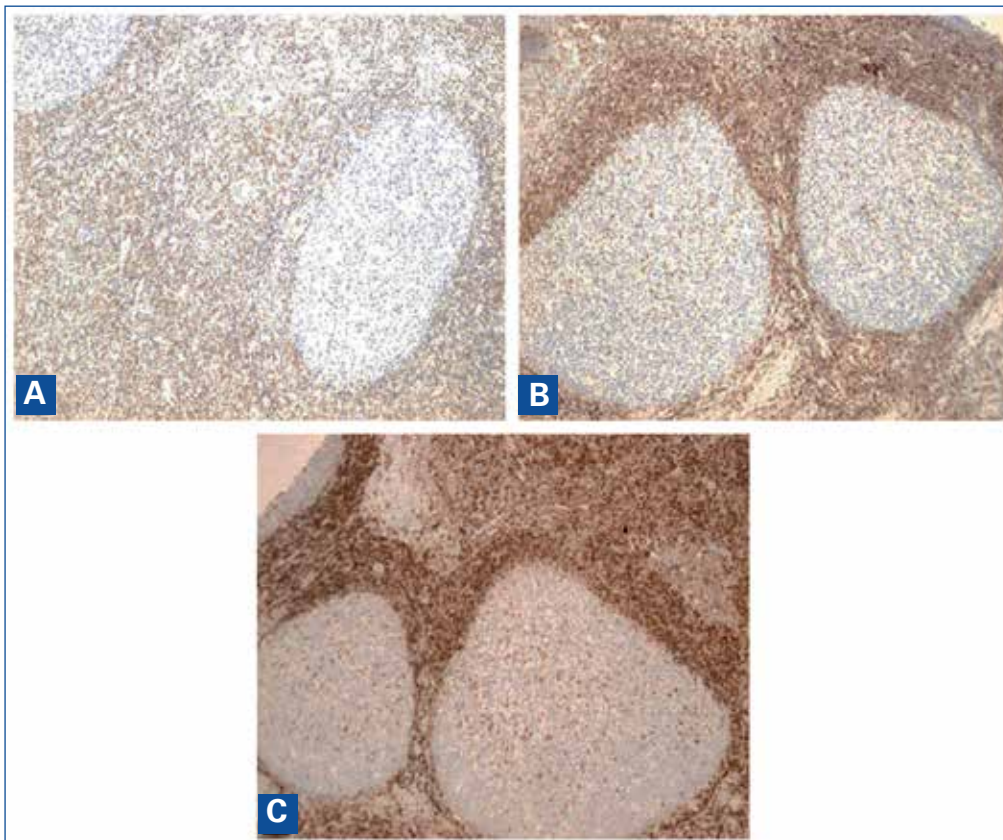


Figura 1. Resultado de la tinción inmunohistoquímica para el anticuerpo BCL2 según el tipo de desenmascaramiento utilizado, que pone de manifiesto que el desenmascaramiento utilizado influye de manera decisiva sobre el resultado. A: Bcl2 pepsina; B: Bcl2 microondas 15'; C: Bcl2 autoclave 6'.

luir la cantidad que se necesite en cada momento (se pueden conservar congeladas alícuotas de anticuerpo prediluido para alargar su tiempo de conservación).

Después de la reacción antígeno-anticuerpo y antes de visualizar la misma, se deben bloquear las enzimas hísticas que pueden enmascarar esta visualización. Hemos mencionado que para visualizar la reacción antígeno-anticuerpo los anticuerpos son marcados con enzimas cuya presencia se detecta haciéndolas reaccionar con su sustrato. El problema radica en que todas las enzimas que se utilizan para este marcaje existen, de forma endógena, en el cuerpo humano. Por tanto, al adicionar el sustrato a un tejido marcado con el anticuerpo-enzima, no solo se teñirían las zonas en las que se ha producido la reacción antígeno-anticuerpo, sino que además se teñirían las zonas en las que se encuentra la enzima de forma endógena. Solo el bloqueo previo de esta enzima endógena permite luego detectar la localización de la reacción generada por la enzima exógena que se halla unida al anticuerpo. Las en-

zimas más utilizadas para marcar los anticuerpos son la peroxidasa de rábano y la fosfatasa alcalina. La peroxidasa endógena se bloquea tratando con H_2O_2 las preparaciones antes de la reacción antígeno-anticuerpo y la fosfatasa alcalina endógena se bloquea pretratando con levamisol⁽⁹⁾.

3.6. Métodos de visualización

Después de haber incubado el tejido con el anticuerpo seleccionado, debemos proceder a hacer visible esta reacción. Para ello, utilizaremos conjuntamente técnicas basadas tanto en la inmunohistoquímica (basada en la reacción antígeno-anticuerpo) como en la histoquímica enzimática (basada en la reacción de una enzima con su sustrato). A este conjunto de técnicas se lo conoce con el nombre de inmunohistoquímica enzimática (véase la introducción). Las enzimas más utilizadas para poner de manifiesto la reacción antígeno-anticuerpo son la peroxidasa y la fosfatasa alcalina.

Desde el principio de la inmunohistoquímica enzimática y con el fin de aumentar la sensibilidad de la técnica, se han tratado de desarrollar métodos que permitiesen disponer de un número máximo de moléculas de enzima por unidad de reacción antígeno-anticuerpo. Para conseguir este propósito, se han ideado sistemas que hacen reaccionar el anticuerpo primario (anticuerpo dirigido contra el antígeno problema) con otros secundarios dirigidos directamente contra él. La finalidad es conseguir que cada molécula de anticuerpo primario se halle unida a complejos formados por numerosas moléculas de anticuerpo que, a su vez, están unidas a la enzima. El método usual de unir los anticuerpos no primarios con la enzima consiste en dirigirlos contra ella y así unirlos a la misma a través de una reacción antígeno-anticuerpo (método peroxidasa-antiperoxidasa o método fosfatasa alcalina-antifosfatasa alcalina)⁽¹⁰⁾ (Figura 2A). El objetivo de este procedimiento es que cuando las numerosas moléculas de enzima, que se hallan unidas a los complejos de anticuerpos que, a su vez, se hallan unidos al anticuerpo primario, reaccionen con el sustrato, den lugar a un producto de reacción muy abundante y fácilmente visible cuando se revele esta reacción con un cromógeno.

También se han ideado sistemas que permiten unir de manera covalente el anticuerpo primario con moléculas (biotina) que en una etapa ulterior se hacen reaccionar de manera no covalente con complejos preformados constituidos por una molécula de avidina unida a varias moléculas de biotina marcada con peroxidasa⁽¹¹⁾. Esto es posible porque la biotina, que es una vitamina, tiene una gran afinidad por la avidina, contenida en la clara de huevo. Cada molécula de avidina puede unirse a 4 moléculas de biotina, mientras que una molécula de biotina puede unirse a una sola de avidina, lo que permite formar grandes complejos. Si se utiliza este método, debe tenerse en cuenta que la avidina de los complejos puede unirse a la biotina endógena o, de manera inespecífica, a diversos componentes del tejido, a través de uniones electrostáticas. Para tratar de evitar alguno de estos problemas, antes de la incubación con el complejo avidina-biotina, se debe bloquear la biotina endógena con avidina⁽¹²⁾. Los complejos avidina-biotina pueden sustituirse

por complejos de estreptoavidina⁽¹⁾ (análogo de la avidina, obtenida de la bacteria *Streptomyces avidinii*) conjugada directamente con varias moléculas de la enzima, lo que puede disminuir la tinción inespecífica que se produce con los complejos avidina-biotina (Figura 2B).

En la actualidad, las técnicas de detección más sensibles que se utilizan en el diagnóstico de rutina utilizan grandes polímeros de moléculas de carbohidrato (por ejemplo, dextrano), que se hallan unidos a numerosos anticuerpos secundarios y a moléculas de peroxidasa⁽¹³⁾. Estos grandes complejos poliméricos se unen, a través del anticuerpo secundario, al primario y, debido al gran número de moléculas de peroxidasa que forman parte del complejo, dan lugar a reacciones de detección intensas y nítidas (Figura 2C).

Constituyen, en el momento actual, el método de detección más recomendable (Figura 3).

Ya hemos mencionado que la peroxidasa es probablemente la enzima más utilizada en los métodos de detección. La búsqueda de la enzima ideal se prolongó hasta 1966, año en el que Nakane y Pierce decidieron utilizar la peroxidasa de rábano⁽⁷⁾. El método que emplearon para la detección de la reacción fue descrito poco antes por Graham y Karnovsky, consistente en hacer reaccionar la peroxidasa con su sustrato específico, el peróxido de hidrógeno, en presencia del cromógeno 3-3' diaminobencidina (DAB, tetrahidrocloreto de 3-3' diaminobencidina)⁽⁸⁾. En la primera fase de la reacción, la enzima y el peróxido de hidrógeno forman un complejo que seguidamente interacciona con la DAB, quedando esta última en estado oxidado. Las moléculas de DAB, una vez oxidadas, presentan una serie de radicales libres que reaccionan entre sí para formar polímeros insolubles de color marrón oscuro. Estos compuestos resisten a los solventes de los lípidos, por lo que es posible realizar preparaciones microscópicas permanentes utilizando medios de montaje como el DPX o similares. El único inconveniente de este procedimiento es que la DAB posee propiedades carcinogénicas, por lo que se han utilizado cromógenos alternativos aunque menos efectivos (3-amino-9-etil-carbazol)⁽⁹⁾. Otra alternativa es utilizar la fosfatasa alcalina, que también puede em-

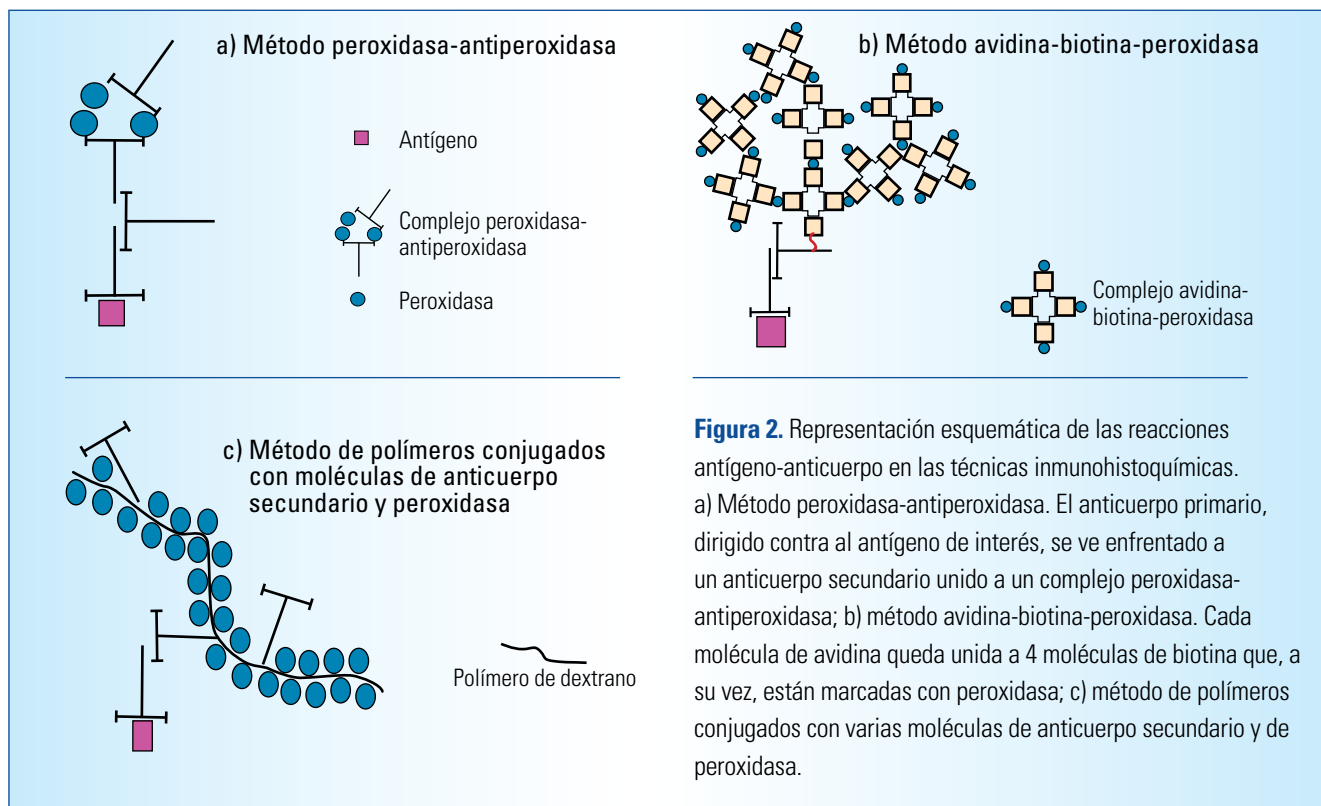


Figura 2. Representación esquemática de las reacciones antígeno-anticuerpo en las técnicas inmunohistoquímicas. a) Método peroxidasa-antiperoxidasa. El anticuerpo primario, dirigido contra al antígeno de interés, se ve enfrentado a un anticuerpo secundario unido a un complejo peroxidasa-antiperoxidasa; b) método avidina-biotina-peroxidasa. Cada molécula de avidina queda unida a 4 moléculas de biotina que, a su vez, están marcadas con peroxidasa; c) método de polímeros conjugados con varias moléculas de anticuerpo secundario y de peroxidasa.

plear diversos sustratos (naftol AS-MX, naftol AS-TR) y diversos cromógenos.

Se finaliza con una solución de contraste (generalmente con hematoxilina).

4. Resultados y controles

Para valorar los resultados de la técnica, es muy útil el uso de controles. Existen controles positivos y controles negativos. Los controles positivos pueden ser internos o externos. Como control positivo externo debemos utilizar un tejido en el que sabemos que existe el antígeno a detectar. Este tejido se debe incubar de forma paralela al caso problema o mejor colocar una sección histológica del mismo en el portaobjetos en el que hemos colocado la sección de la biopsia medular problema. Dado que la detección del antígeno depende de varios factores que pueden haber afectado solo la muestra problema (por ejemplo, la fijación) el mejor control positivo es el interno. Este control lo constituyen células normales, que forman parte de la biopsia medular problema y que expre-

san el antígeno que queremos estudiar. Por ejemplo, las células plasmáticas expresan CD79a, CD138 y CD30; los linfocitos B expresan CD79a y CD20; los linfocitos T expresan CD43, CD7, CD5 (no se detecta en muestras fijadas en B5), CD3 y CD4 o CD8; las células endoteliales expresan ciclina D1, CD34 y FVIII; los granulocitos expresan CD10, CD15 y MPO; los megacariocitos expresan FVIII, CD61 y CD62; los histiocitos y los monocitos expresan CD68 (PG-M1); los hematíes glicoforina C; los osteoblastos CD56; los mastocitos CD117 (c-kit); etc. Para algunos antígenos no disponemos de control interno en la médula ósea; por ejemplo, para la TdT y para otros es difícil en ocasiones detectarlo, como el CD23, pues solo lo expresa un porcentaje ínfimo de linfocitos (1 o 2 por biopsia normal). En estos casos, solo es posible disponer del control positivo externo (por ejemplo, timo para la TdT y amígdala para el CD23). De la comparación de los resultados entre el control positivo externo y el interno pueden deducirse datos muy útiles. Por ejemplo, si ambos controles son negativos, lo más probable es que haya habido un problema técnico durante el proceso de inmunotinción o que la

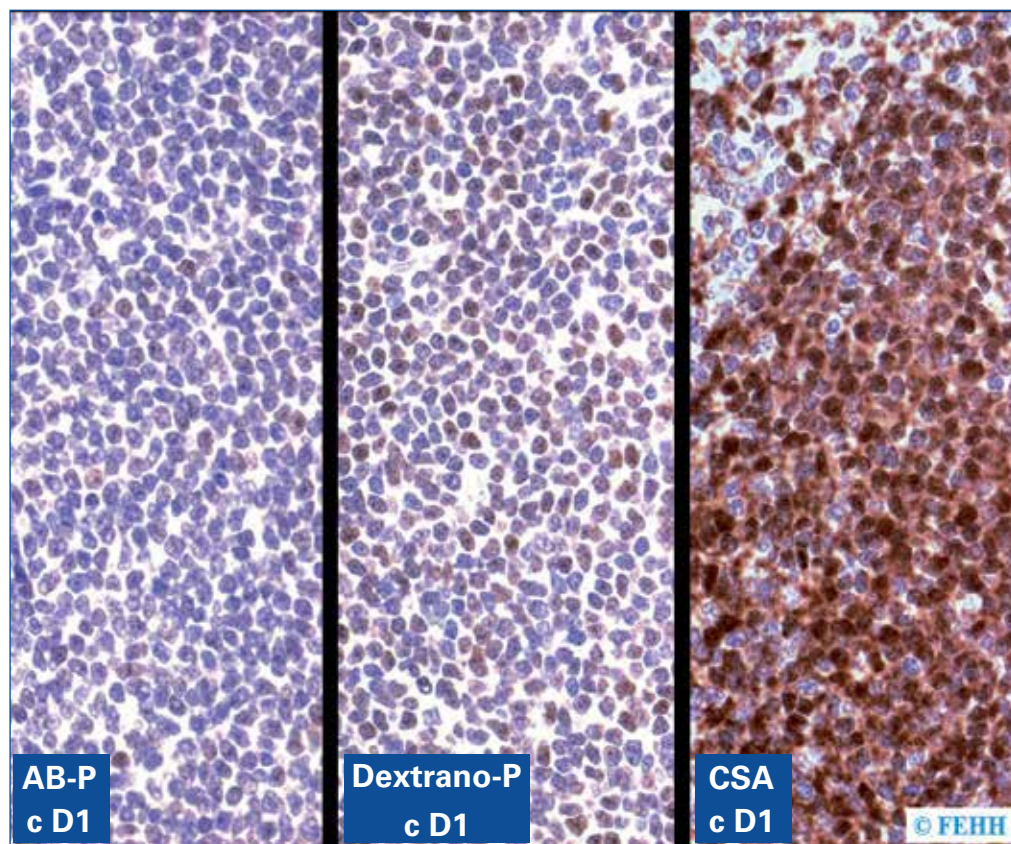


Figura 3. Resultado de la tinción inmunohistoquímica para el anticuerpo ciclina D1 según el método de visualización utilizado. Al igual que el desenmascaramiento, este paso de la técnica inmunohistoquímica condiciona el resultado final, puesto que los distintos métodos de visualización presentan una gama muy amplia de sensibilidades, siendo máxima en los métodos que utilizan amplificación catalizada de la señal (método basado en la estreptoavidina-biotina que incorpora una amplificación de la señal mediante tiramina biotinilada).

recuperación antigénica haya sido insuficiente; si, por el contrario, solo en el control interno es negativo, lo más probable es que la fijación y/o la decalcificación de la muestra hayan sido inadecuadas. El control negativo no suele utilizarse en rutina. En caso de que se considere necesario, debemos utilizar el mismo tejido problema al que no se le añade el anticuerpo primario (la incubación con el anticuerpo primario queda sustituida por incubación con agua).

Un resultado positivo tiene mucho más valor que uno negativo, puesto que este último puede ser debido a problemas metodológicos o a una sensibilidad insuficiente. Así pues, en los informes se ha de utilizar el término **“no hemos detectado expresión de...”** en lugar de “las células no expresan...” o “las células son negativas para...”.

5. Aparatos de inmunotinción

Hoy en día la mayor parte de las etapas de la inmunotinción se han automatizado. Las ventajas de ello

son, principalmente, la obtención de resultados reproducibles y la optimización de los técnicos de laboratorio. Los tipos de inmunoteñidores existentes se diferencian básicamente en si pueden o no realizar la desparafinización y la recuperación antigénica también de manera automática. Los que pueden hacerlo son los de elección pero son más caros y, por tanto, solo suelen estar al alcance de los laboratorios que procesan un gran volumen de muestras. La tendencia actual es a que las máquinas sean de “tipo cerrado”, es decir, que solo puedan utilizar los reactivos de una determinada empresa. En lo posible, es deseable evitar esta situación, por lo menos en lo que se refiere a la elección de los anticuerpos primarios.

6. Bibliografía

1. Taylor CR, Shi SR, Barr NJ, Wu N. Techniques of immunohistochemistry: principles, pitfalls and standardization. Chapter 1. Diagnostic Immunohistochemistry. Churchill Livingstone; 2002.

2. Kohler G, Milstein C. Continuous culture of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature*. 1975;256:495-7.
3. Battifora H, Kopinski M. The influence of protease digestion and duration of fixation on the immunostaining of keratins. A comparison of formalin and ethanol fixation. *J Histochem Cytochem*. 1986;34:1095-100.
4. Fraenkel-Conrat H, Brandon BA, Olcott HS. The reaction of formaldehyde with proteins. IV: Participation of indole groups. *J Biol Chem*. 1947;168:99-118.
5. Fraenkel-Conrat H, Olcott HS. The reaction of formaldehyde with proteins. V: Cross-linking between amino and primary amide or guanidyl groups. *J Am Chem Soc*. 1948;70:2673-84.
6. Fraenkel-Conrat H, Olcott HS. Reaction of formaldehyde with proteins. VI: Cross-linking of amino groups with phenol, imidazole, or indole groups. *J Biol Chem*. 1948;174:827-43.
7. Shi SR, Cote RJ, Taylor CR. Standardization and further development of antigen retrieval immunohistochemistry: strategies and future goals. *J Histochem J*. 1999;22:177-92.
8. Taylor CR, Shi SR, Chen C, Young L, Yang C, Cote RJ. Comparative study of antigen retrieval heating methods: microwave, microwave and pressure cooker, autoclave, and steamer. *Biotech Histochem*. 1996;71:263-70.
9. Weir EE, Pretlow TG, Pitts A. Destruction of endogenous peroxidase activity in order to locate cellular antigens by peroxidase-labeled antibodies. *J Histochem Cytochem*. 1974;22:51.
10. Sternberg LA, Hardy PH Jr, Cuculis JJ, Meyer HG. The unlabeled antibody-enzyme method of immunohistochemistry. Preparation and properties of soluble antigen-antibody complex (horseradish peroxidase-antihorseradish peroxidase) and its use in identification of spirochetes. *J Histochem Cytochem*. 1970; 18:315-33.
11. Guesdon JL, Ternynck T, Avrameas S. The use of avidin-biotin interaction in immunoenzymatic techniques. *J Histochem Cytochem*. 1979;27:1131-9.
12. Wood GS, Warnke R. Suppression of endogenous avidin-binding activity in tissues and its relevance to biotin-avidin detection systems. *J Histochem Cytochem*. 1981;29:1196-204.
13. Vyberg M, Nielsen S. Dextran polymer conjugate two-step visualization system for immunohistochemistry. *Appl Immunohistochem*. 1998;6:3.

ANEXO I. MARCADORES DE USO HEMATOLÓGICO EN INMUNOHISTOQUÍMICA: ANTICUERPO, CLON Y DESENMASCARAMIENTO

Anticuerpo	Clon	Dilución	Desenmascaramiento antigénico	Tampón	pH
Bcl-2	100/D5	1:120	Autoclave 3'	Citrato	7,3
Bcl-6	PG-B6p	1:20	Autoclave 6'	Citrato	7,3
Bcl-10	151.1	1:20	Microondas 30'	EDTA	8
CD1a	MTB1	1:20	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD3	PS1	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD4	1F6	1:20	Autoclave 3'	Tris/EDTA	9
CD5	4C7	1:50	Autoclave 3'	Tris/EDTA	9
CD7	CBC37	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD8	C8/144B	1:25	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD10	56C6	1:10	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD13	38C12	1:40	Autoclave 3'	Tris/EDTA	9
CD15	C3D-1	1:50	Autoclave 3'	Tris/EDTA	9
CD20	L26	1:800	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD21	1F8	1:20	Proteinasa K 8'		
CD23	1B12	1:20	Autoclave 6'	Citrato	7,3
CD30	Ver-H2	1:20	Proteinasa K 4'	Citrato	7,3
CD38	SPC32	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD43	DF-T1	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD45RB	2B11/PD7/26	4:20	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD56	1B6	1:25	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD57	Leu-7	1:40	Microondas 30'	Citrato	7,3
CD61	Y2/51	1:25	Autoclave 3'	EDTA	8
CD68	PG-M1	1:100	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD79a	JCB117	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD99	12E7	Prediluido	Autoclave 3'	Citrato	7,3
CD138	MI15	1:25	Microondas 30'	EDTA	8
CD246	Alk-1	1:25	Autoclave 3'	Citrato	7,3
Cyclin D1	PS2D11F11	1:10	Autoclave 6'	Citrato	7,3
Cyclin D1	SP4	1:100	Autoclave 6'	Citrato	7,3
FVIII	Policlonal	1:3.200	Autoclave 3'	Citrato	7,3
Glycoforina c	Ref40f	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
HLA-DR	CR3/43	1:25	Autoclave 3'	Citrato	7,3
IgA	Policlonal	1:64.000	Autoclave 3'	Citrato	7,3
IgD	Policlonal	1:400	Autoclave 3'	Citrato	7,3
IgE	Policlonal	1:25	Proteinasa K 4'		
IgG	Policlonal	1:12.800	Autoclave 3'	Citrato	7,3
IgM	Policlonal	1:900	Proteinasa K 4'		
Kappa	Policlonal	1:80.000	Microondas 30'	EDTA	8
Ki-67	Policlonal	1:100	Autoclave 3'	Citrato	7,3
Lambda	N10/2	1:100	Microondas 30'	EDTA	8
Mieloperoxidasa	Policlonal	Prediluido	Autoclave 3'	Citrato	7,3
MUM-1	MUM1p	1:25	Autoclave 3'	Citrato	7,3
PAX-5	1EW	1:40	Autoclave 3'	Citrato	7,3
p53	DO-7	1:50	Autoclave 3'	Citrato	7,3
TdT	Policlonal	1:10	Autoclave 3'	Citrato	7,3
TIA-1	2G9	1:200	Autoclave 3'	Citrato	7,3

Histología de la médula ósea normal.

Principales artefactos en las biopsias medulares

Luis Hernández Nieto, Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera

1. Histología de la médula ósea normal

Como en otros estudios microscópicos, debe comenzarse la observación de un corte de un cilindro medular utilizando los aumentos menores ($\times 40$ o 60), lo que permite obtener una visión panorámica muy útil.

1.1. Estructura

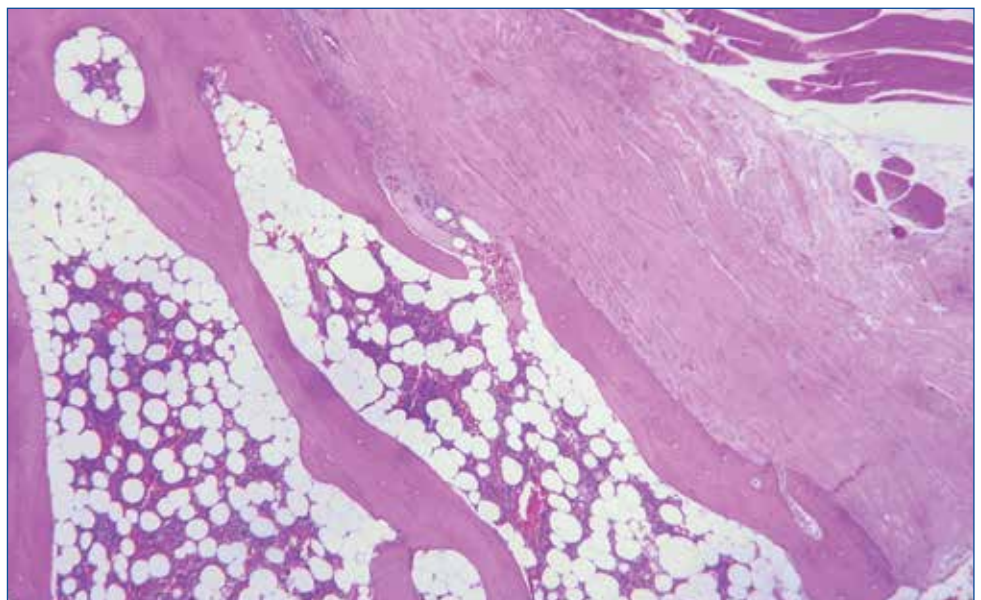
La biopsia de un hueso como la cresta iliaca presenta 2 componentes: hueso esponjoso y médula

ósea. A continuación, se describe la histología normal de cada uno de ellos.

1.1.1. Hueso

Dado que los métodos habituales de obtención de la biopsia medular (BM) obtienen un cilindro que profundiza en dirección anterior en la cresta iliaca (no transfixiante), solo observamos una cortical, inmediatamente subyacente al periostio que, en su porción más externa, presentará también algunas fibras de músculo estriado (**Figura 1**). En jóvenes

Figura 1. Aspecto a pequeño aumento del cilindro de biopsia. Zona de transición corticomedular. A la derecha cortical, sobre esta, menos eosinófilo el conectivo del periostio y, más a la derecha, fibras de músculo estriado (HE $\times 60$).



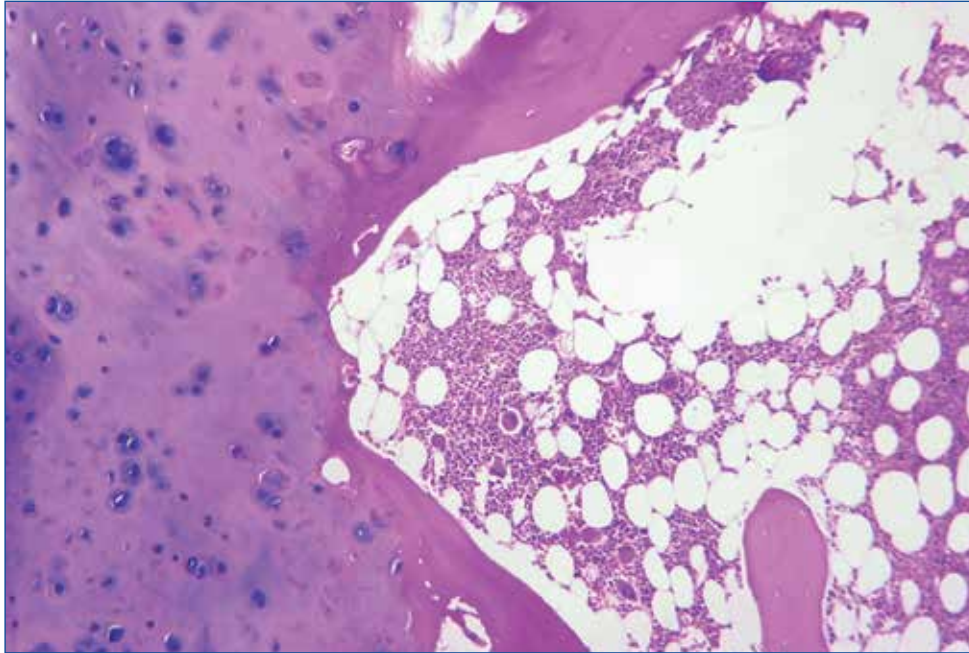


Figura 2. Zona de transición corticomedular. A la izquierda, cartílago de crecimiento óseo; a la derecha, se va constituyendo la cortical (banda más eosinófila); más a la derecha, espacio medular y una trabécula ósea (HE $\times 100$).

(y ocasionalmente en adultos), puede verse a veces el cartílago de crecimiento entre la cortical y el periostio (**Figuras 2 a 4**). En profundidad, bajo una cortical más o menos gruesa dependiendo de la masa ósea del sujeto, encontraremos la esponjosa, caracterizada por las trabéculas óseas, que delimitan espacios o celdillas medulares en cuyo seno se aloja la médula. El tejido óseo maduro es en hema-

toxilina-eosina (HE) homogénea y discretamente eosinófilo (rosado) (**Figura 3**). La cortical aparece como una lámina perpendicular al sentido del cilindro, de distinta anchura según la masa ósea del sujeto, mientras que las trabéculas tienen aspecto de bandas alargadas, de grosor aproximadamente uniforme en toda su longitud, de dirección más o menos curva, que no suelen cerrar completamente los

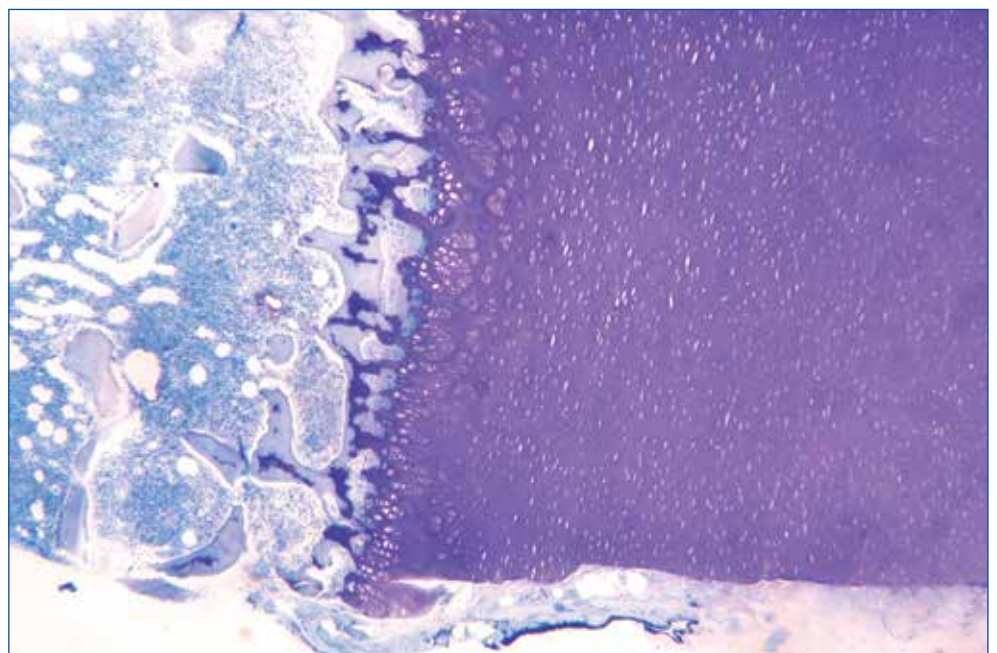


Figura 3. Zona de transición corticomedular en un niño, donde predomina el cartílago de crecimiento (derecha de la imagen) (Giemsa $\times 60$).

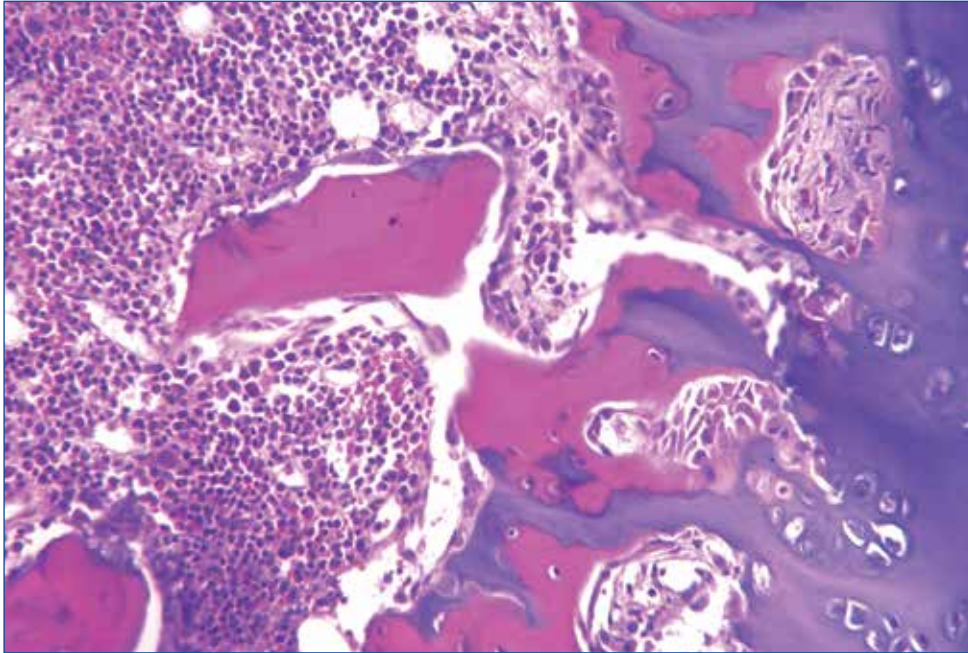


Figura 4. Zona de transición corticomedular a mayor detalle, en un sujeto joven; la sustancia fundamental del cartílago (parte inferior izquierda) se va transformando en ósea, pierde basofilia, y el típico aspecto en grano de café de los condrocitos cambia por los osteocitos. Se van fraguando los espacios o celdillas medulares (HE $\times 200$).

espacios medulares por el azar de la sección histológica. En ellas percibimos los osteocitos, incluidos en la sustancia fundamental ósea que, en su periferia, presentan expansiones labrando canalículos dispuestos radialmente, por medio de los cuales se comunican los osteocitos entre sí y con el endostio y se nutren (Figura 1). Al borde medular de las trabéculas está el endostio, que está formado

por los osteoblastos; estas células en reposo son alargadas, similares a las células endoteliales de los vasos, mientras que en un hueso en remodelación adoptan aspecto cúbico, lo que las hace más visibles (Figuras 5 y 6). El tercer tipo de células del componente óseo son los osteoclastos. En hueso normal en reposo, son difíciles de percibir, mientras que se hacen muy visibles (alojados en sus propias

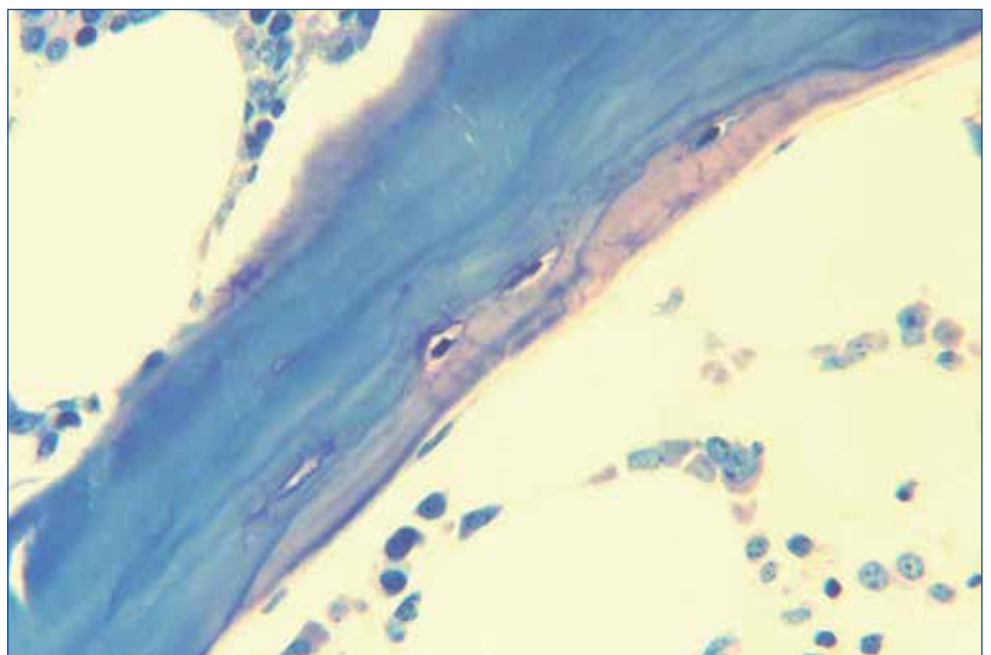


Figura 5. Detalle de una trabécula ósea normal. Se observan varios osteocitos y sus canalículos nutricios; zona inferior derecha de osificación más reciente (menos basófila); borde endostal en el que se observan bien los núcleos alargados de osteoblastos en reposo. A derecha e izquierda, espacios medulares (Giemsa $\times 400$).

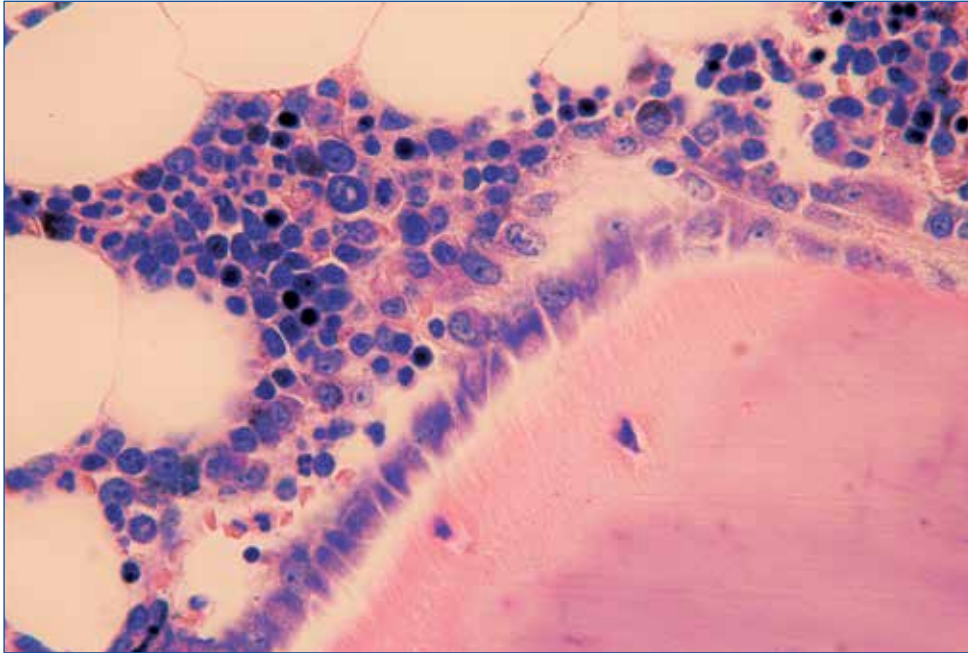


Figura 6. Detalle de una trabécula ósea con actividad osteogénica, que muestra en el borde endostal osteoblastos activos (cúbicos). En la parte superior, variada celularidad hematopoyética (Giemsa $\times 1.000$).

cavidades resortivas o lagunas de Howship) en los procesos de actividad ósea, remodelación, metástasis, mieloma y enfermedad de Paget ósea; son células gigantes, con núcleos múltiples aislados y redondos; por tanto, no confundibles con los megacariocitos (**Figura 7**). Con la tinción tricrómica de Masson, las trabéculas óseas normales aparecen de color rojo y la sustancia ósea fundamental no

calcificada aparecerá en verde. Dependiendo del método de inclusión seguido, con o sin decalcificación, y de la intensidad de esta, aparecerán franjas de color verde, semejante al colágeno.

El componente óseo no es objeto de atención en un estudio hematológico y en el diagnóstico de problemas óseos específicos debe seguirse otro procedimiento. Sin embargo, es conveniente habi-

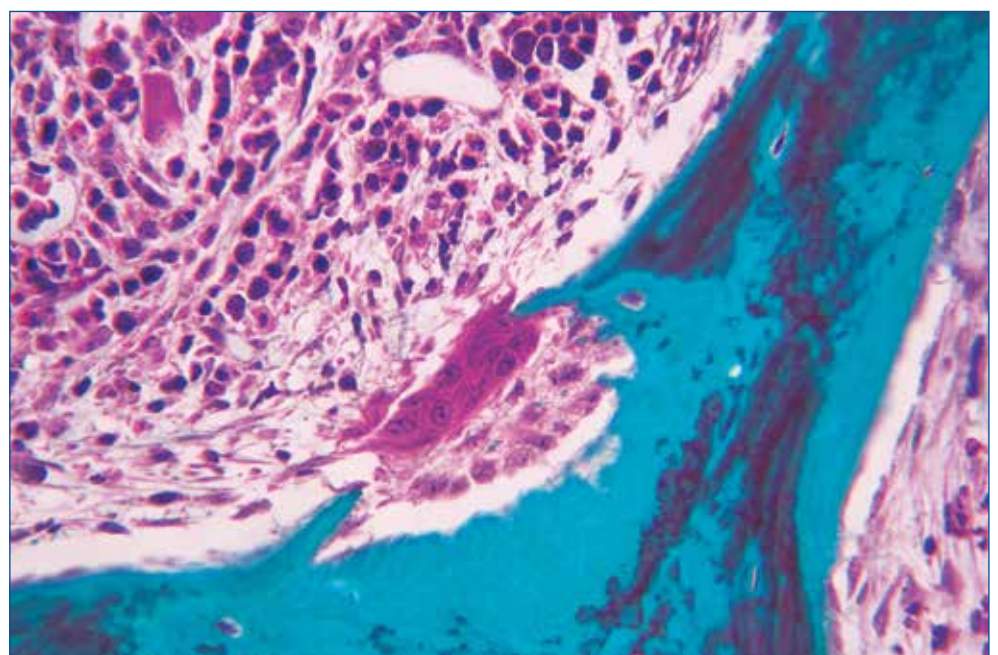


Figura 7. En un hueso patológico, se observa en el reborde endostal un osteoclasto, probablemente en actividad. Múltiples núcleos independientes (a diferencia de los megacariocitos) (Tricrómico $\times 400$).

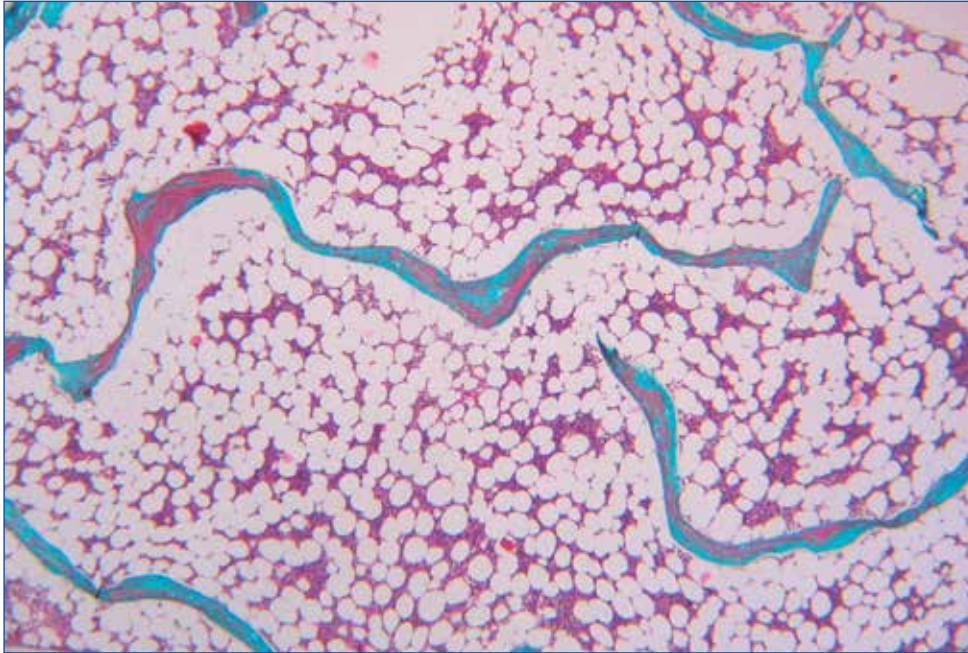


Figura 8. Médula ósea hipoplásica que muestra trabéculas óseas regulares y muy adelgazadas (osteopenia) (Tricrómico $\times 100$).

tuarse a la histología ósea normal y ser capaz de detectar algunas lesiones óseas básicas. La **osteoporosis** es fácilmente detectable; en ella, la cortical es muy delgada y las trabéculas óseas estrechas, finas y pocas (**Figura 8**); con frecuencia, la osteopenia se acompaña de atrofia grasa peritrabecular (véase más adelante). La **osteosclerosis** se caracterizará por un engrosamiento de las trabéculas, frecuen-

temente con irregularidades en su contorno, que le otorgan un aspecto tosco, con evidentes fenómenos de aposición ósea (**Figura 9**). La **osteomalacia** se caracteriza por un visible ribete osteoide o de sustancia fundamental ósea no calcificada (**Figura 10**). La **osteítis fibrosa**, lesión característica del hiperparatiroidismo, se caracteriza por erosiones trabeculares, a menudo en manguito peritrabecu-

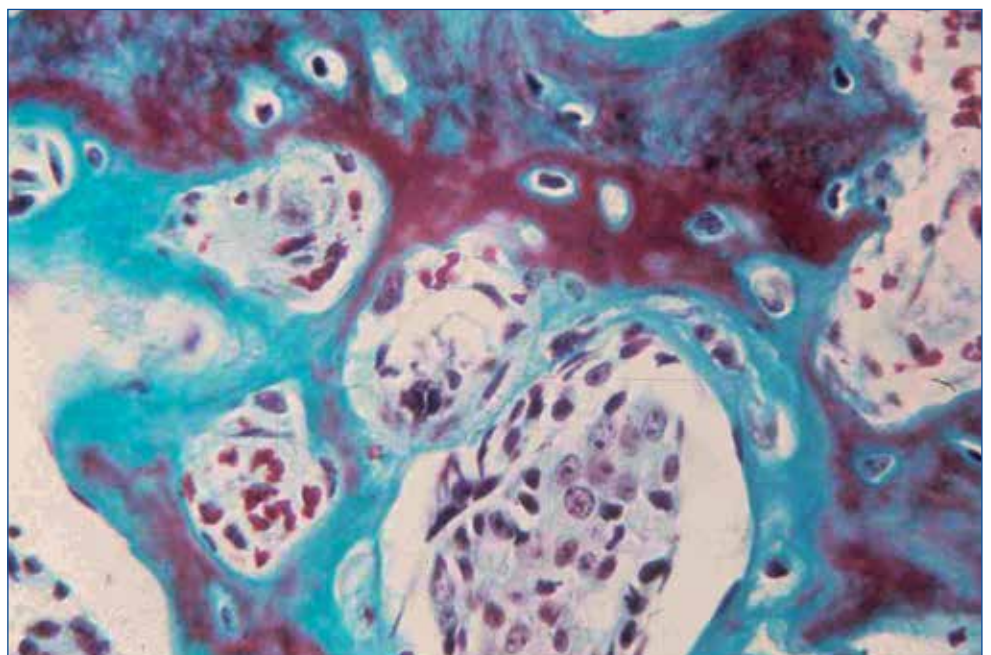


Figura 9. Osteosclerosis asociada a metástasis en médula ósea. Irregularidad de la estructura ósea, abundante trabeculación, áreas en rojo calcificadas y, en verde, material osteoide neoformado. Abundancia de osteocitos en el hueso calcificado; se observa la inclusión de nuevos osteocitos en el osteoide (Tricrómico de Masson $\times 400$).

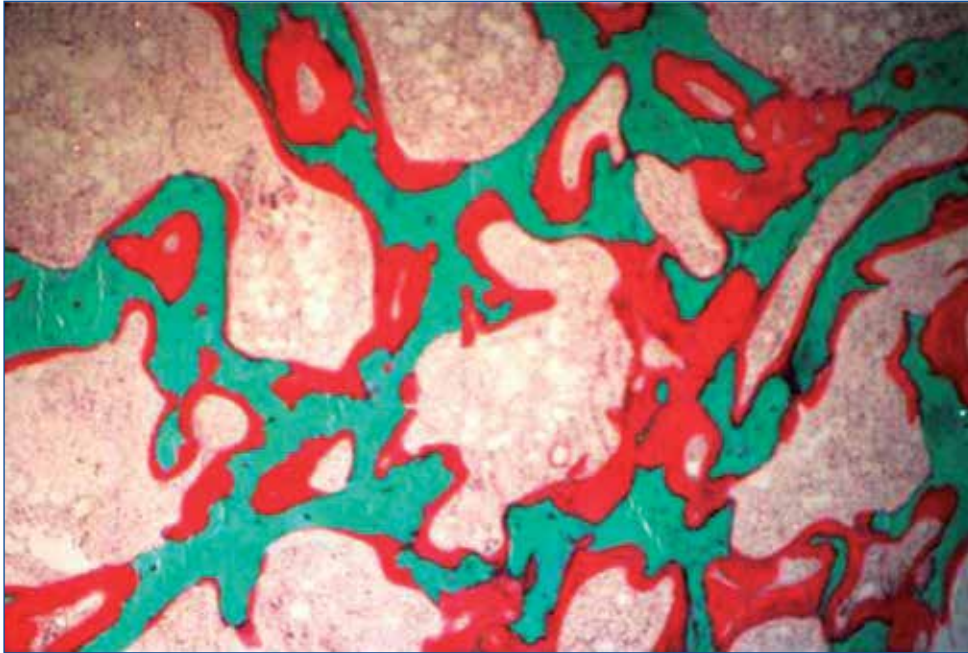


Figura 10. Osteomalacia en un paciente renal. Zona interior de las trabéculas de osificación normal y abundante ribete osteoide (rojo) no calcificado. Biopsia sin decalcificar incluida en plástico (Tricrómico $\times 100$). Original cedido por los Dres. V. Lorenzo y A. Torres.

lar limitado, con fibrosis y ocasionales osteoclastos (Figura 11). Finalmente, la **enfermedad de Paget ósea** es llamativa por la denominada imagen en mosaico o en puzzle del tejido óseo, la gran actividad osteoclástica y la fibrosis (Figura 12). La observación de alguna de estas anomalías, generalmente no esperada, al estudiar una BM con fines de diagnóstico hematológico, debe hacerse constar en los

informes, ya que puede alertar al clínico sobre dicha patología.

1.1.2. Médula ósea

Alojada en los espacios o celdillas medulares se halla la médula ósea. Se distinguen en ella 2 com-

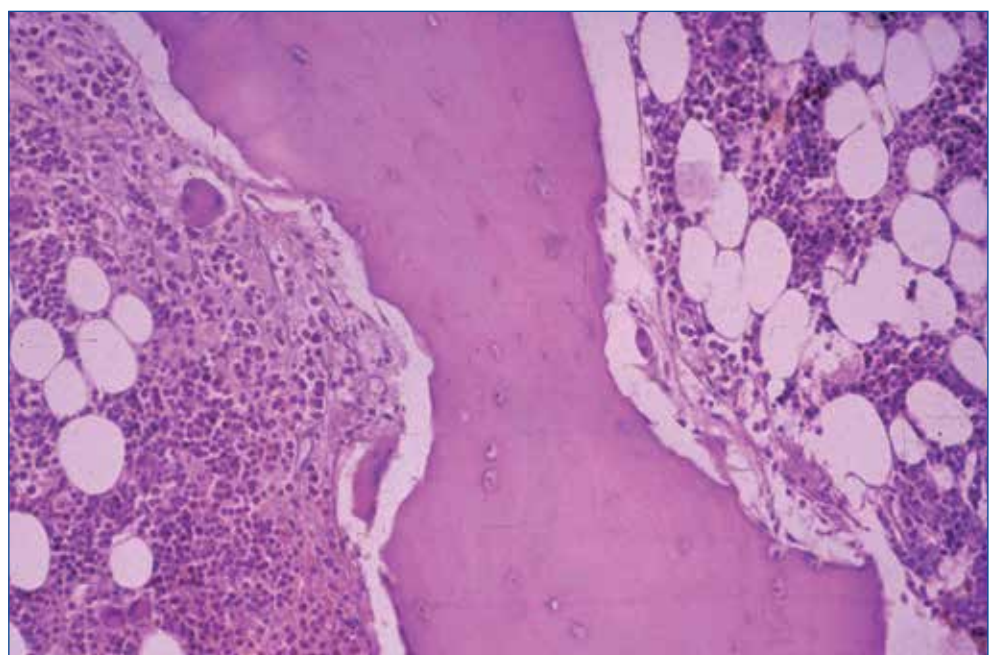


Figura 11. Osteítis fibrosa quística. Llamativa erosión trabecular por un manguito fibroso que muestra actividad osteoclástica (HE $\times 250$).

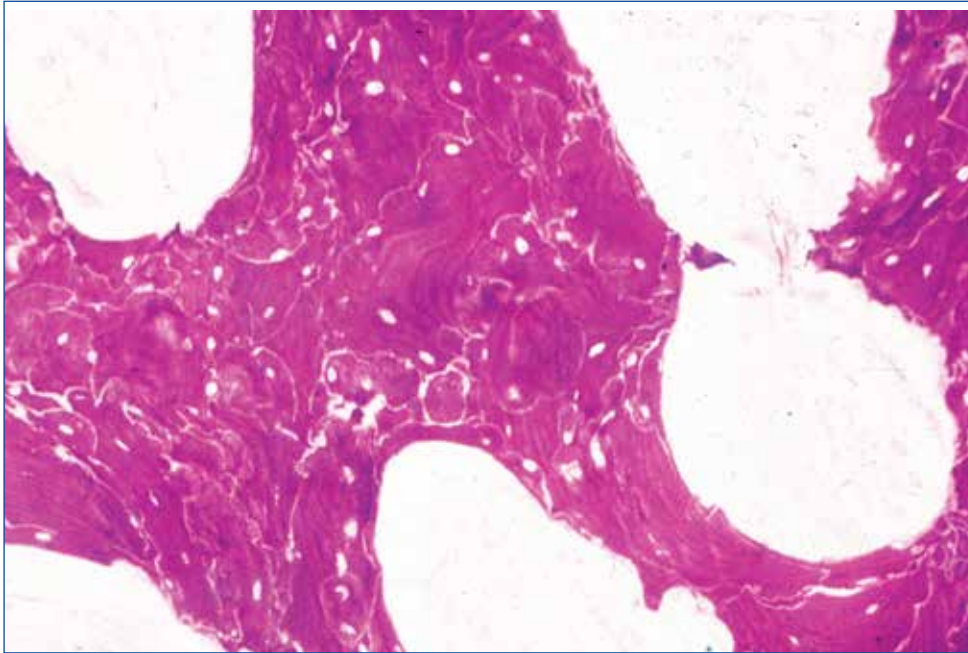


Figura 12. Enfermedad ósea de Paget. Trabeculación muy abigarrada. Estructura ósea “en mosaico” o “puzle”. (PAS × 400). Preparación cedida por el Prof. G. Duhamel.

ponentes: parénquima hematopoyético y estroma medular.

1.1.2.1. Parénquima hematopoyético

Constituido por las células de las 3 series mieloides, linfocitos, células plasmáticas, células monocito-macrofágicas y mastocitos. Este conjunto celular se aloja entre las trabéculas óseas y los adipocitos, células del estroma, que dan al tejido medular el típico aspecto areolar.

La observación microscópica de los espacios medulares tendrá en cuenta los siguientes aspectos: a) relación celularidad-grasa (RC/G); b) conservación o no de la arquitectura medular normal; y c) estado y morfología de las 3 series celulares.

1.1.2.1.1. Relación celularidad/grasa

Se ha debatido la representatividad de la biopsia de cresta iliaca como muestra del resto del esqueleto⁽¹⁾. En un estudio, se comprobó que, aunque puede ser un poco más baja que en otros huesos, como las vértebras, en ambos huesos son paralelas las variaciones en la RC/G asociadas a la edad⁽²⁾.

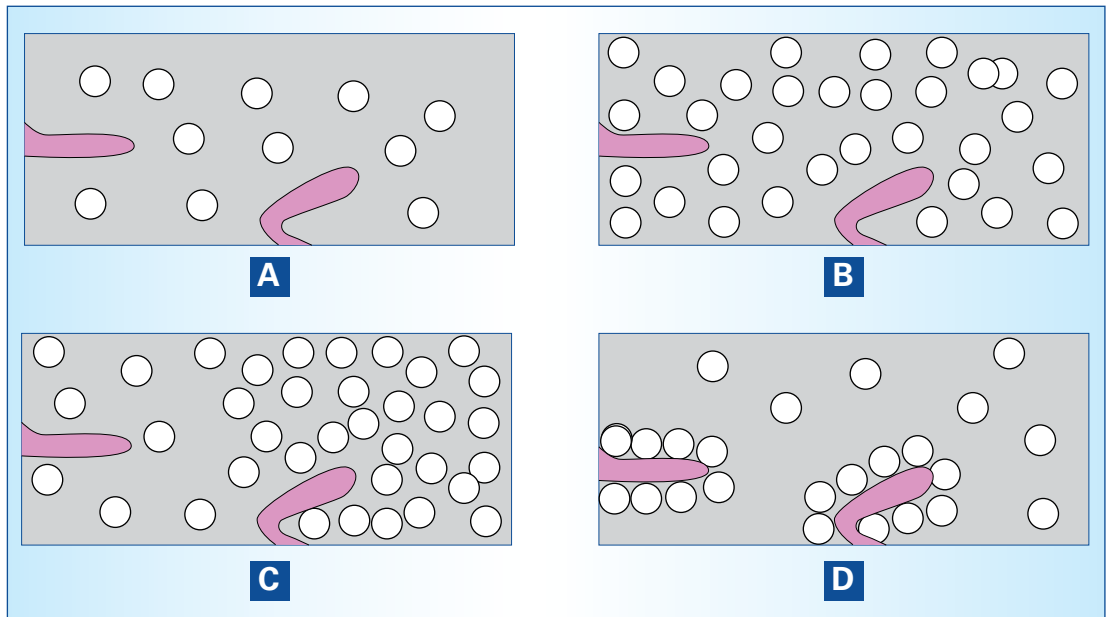
Estas últimas son debidas no solo a una pérdida progresiva de celularidad sino también a una pérdida de masa ósea, que hace que la cantidad de células grasas aumente para llenar los espacios medulares más amplios⁽³⁾.

Aun cuando la valoración precisa de la RC/G solo puede hacerse mediante métodos histomorfométricos, estos son inadecuados con una finalidad práctica. Un estudio que comparó el método morfométrico y el visual arrojó una correlación entre ambos del 78%⁽⁴⁾; por tanto, se admite la valoración visual aproximativa como válida en la práctica.

En principio, estos cambios relacionados con la edad son continuos, desde el momento del nacimiento, en que existen muy escasas células grasas; pero, a efectos prácticos, podemos considerar 3 prototipos etarios aproximados: a) jóvenes hasta 30 años aproximadamente, con una RC/G aproximada de 3/1; b) 30-65 años, proporción aproximada 1/1; y c) > 65 años, proporción aproximada de 1/3. Esta consideración es absolutamente necesaria a la hora de pronunciarse sobre la mayor o menor riqueza o celularidad medular. Nunca se debe valorar este aspecto sin tener en cuenta la edad del paciente y puede también aplicarse para adultos la fórmula *celularidad = 100% – edad del paciente*, aunque no es práctica para los extremos del rango

Figura 13.

Esquema de los principales patrones de atrofia (aplasia) medular. A: relación celularidad/grasa normal; B: aplasia estándar o sistematizada; C: aplasia heterogénea; D: aplasia peritrabecular.



de edad. La zona subcortical tiende a ser hipocelular y no debe valorarse para la estimación de la celularidad global⁽⁵⁾. Finalmente, debe tenerse en cuenta que, dadas las posibles diferencias de celularidad entre una y otra celdilla, especialmente en la edad avanzada, es deseable disponer de un corte que contenga 5 o 6 espacios medulares (cilindros de 2 a 3 cm). Esta cautela es necesaria igualmente para incrementar las posibilidades de detección de lesiones focales.

Hay que tener en cuenta, al respecto, la existencia de ocasionales variaciones en el reparto de la celularidad y la grasa que no implican déficit hematopoyético, como las que siguen⁽⁶⁾ (**Figura 13**):

- **Hipocelularidad (hipo/aplasia) subcortical.**
- **Hipocelularidad parcheada** (aplasia heterogénea o de distribución): es también una muy frecuente variante de la normalidad, señalada desde los años sesenta por Hashimoto⁽⁷⁾.
- **Aplasia peritrabecular:** forma peculiar de aumento de células grasas en torno a las trabéculas, que suele asociarse a osteopenia senil.

Estas variantes anatómicas con hipocelularidad más o menos focal se distinguen histológicamente de la verdadera aplasia medular por la ausencia total de fenómenos de reacción inmune o inflamatorios propios de esta, como edema, hemorragias o infiltrados linfoplasmocitarios. Por ello, a veces nos

referimos coloquialmente a estas variantes no relacionadas con insuficiencia medular como aplasia "seca"

1.1.2.1.2. Conservación o no de la estructura medular

Esta es, en condiciones normales, homogénea (dentro de la heterogeneidad que supone la presencia salteada de células grasas) y no interrumpida por zonas focales hipercelulares sin grasa, lo que evocaría la presencia de un tejido anormal, como una localización neoplásica (linfomatosa o de otra naturaleza), granulomas, áreas de necrosis o fibrosis. Estas alteraciones de la estructura pueden ser redondeadas y afectar al centro del espacio medular o adoptar carácter parasinusoidal o paratrabecular (véase, por ejemplo, el capítulo 9, biopsia de médula ósea en linfomas).

1.1.2.1.3. Localización y morfología de la hematopoyesis mieloide y otras células

Como es lógico, la existencia de células hematopoyéticas de las 3 series, con distintas etapas madurativas en cada una de ellas, distinta morfología y diferente apetencia tintorial, otorga al tejido me-

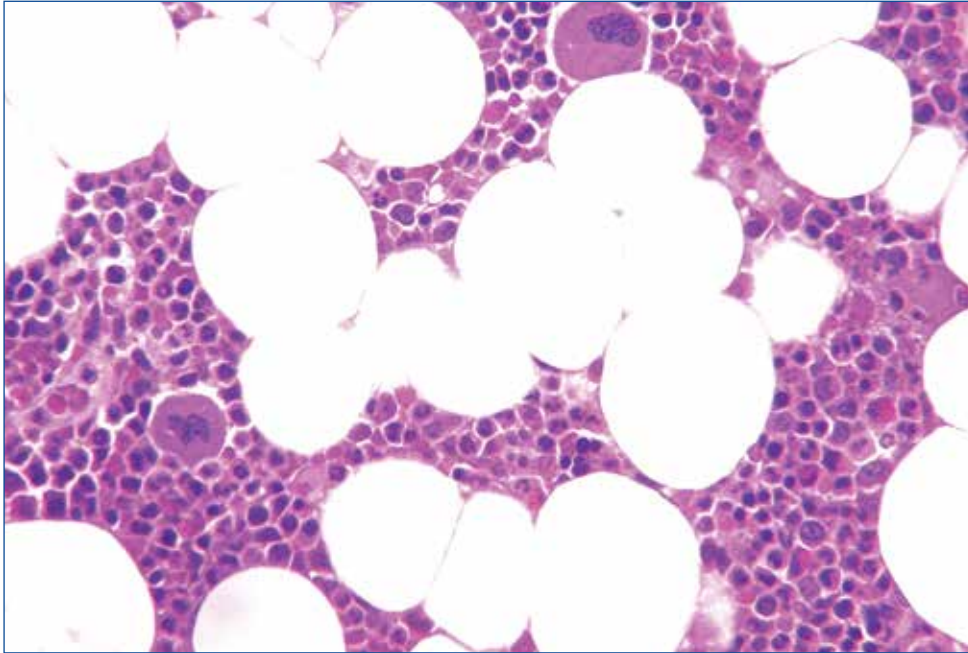


Figura 14. Espacio medular normal. Se observan 2 megacariocitos normales con sus característicos rasgos morfológicos y tintoriales; obsérvese el núcleo multilobulado; el resto de la celularidad es mayoritariamente granulocítica. En la parte inferior derecha, algunos eritroblastos (HE \times 250).

dular un aspecto general de heterogeneidad que llama la atención y que es marchamo de normalidad. La pérdida de tal aspecto heterogéneo o, lo que es lo mismo, un aspecto de monotonía celular son sugestivos de proceso patológico y a menudo de neoplasia.

Los megacariocitos y promegacariocitos destacan a pequeños aumentos por su tamaño mucho mayor que el resto de las células. Aparecen separados, como salteados en el espacio medular. La presencia de acúmulos de más de 3 o 4 células es un hecho patológico. Estudios histomorfométricos concretan el número de megacariocitos en un margen de 7 a 15/mm²⁽⁹⁾, dependiendo las cifras mayores de la utilización de técnicas inmunohistoquímicas (CD31, CD61). Una forma aproximativa de valorar la cantidad de estas células es su apreciación por campo microscópico, que para un aumento \times 100 puede ser de 6 a 10 megacariocitos. Pero, con fines prácticos, su proporción normal será conocida con el hábito de observar muchas biopsias medulares. Lo mismo que en el aspirado medular, la mayor o menor abundancia de megacariocitos es un dato indirecto, pero estrechamente relacionado, de la cantidad total de celularidad hematopoyética. En HE, su citoplasma es eosinófilo y el gran núcleo (hiperdiploidía propia de la serie) muestra el aspec-

to polilobulado (no segmentado) característico. Los megacariocitos se localizan normalmente en situación centromedular y especialmente cercanos a los sinusoides⁽⁹⁾ (**Figuras 14 a 17**). La emperipolesis o internalización (que no fagocitosis) de otras células en el citoplasma (**Figura 18**) es un fenómeno normal en los megacariocitos, que se produce gracias a sus membranas de demarcación; es más evidente cuando esta línea celular es proliferante o hiperactiva, aunque aún se discute su significado. A veces puede verse cómo un megacariocito se deforma para emitir una parte de su citoplasma dentro de los sinusoides (**Figura 19**), para liberar finalmente plaquetas en la luz vascular, lo que dará lugar a núcleos desnudos residuales. La presencia de megacariocitos completos intrasinusoidales es más bien patológica y propia de neoplasias mieloproliferativas.

También a pequeño aumento, destacan los eritroblastos (**Figuras 20 y 21**), que muestran núcleos densamente teñidos, en los que salvo en las formas más inmaduras no puede observarse la estructura cromatinica, apareciendo el núcleo como lacado. Aunque las características peculiares de los precursores eritroides se ven bien en HE, la tinción de Giemsa es más recomendable para su fácil identificación. Estas células aparecen agrupadas (islotes

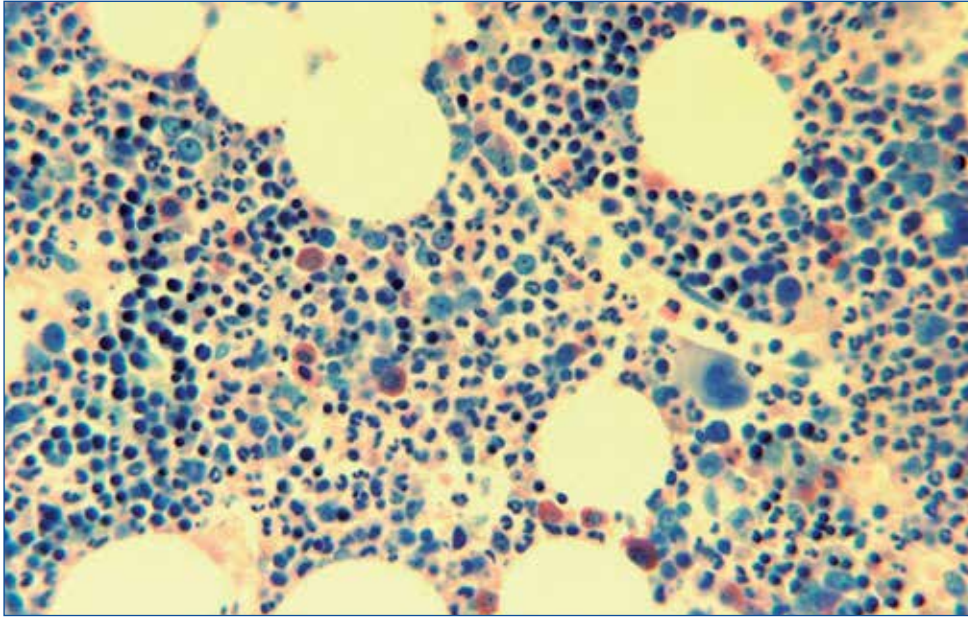


Figura 15. Normal relación celularidad/grasa para un sujeto joven. Células de las 3 series hematopoyéticas. Destacan los mielocitos eosinófilos, islotes eritroblásticos con células de núcleo cromático, cuya estructura apenas se distingue; precursores granulocíticos en sus distintas etapas de maduración-diferenciación; y, hacia la derecha, junto a una luz sinusoidal, un megacariocito (Giemsa \times 250).

o nidos eritroblásticos), reconociéndose en estos islotes distintos tamaños celulares, correspondientes a la progresiva maduración/diferenciación eritroide. Esta composición de los islotes eritroides con células en distintos estadios madurativos (y distintos tamaños) es un criterio de normalidad, que puede perderse, por ejemplo, en situaciones de hiperregeneración eritroide, en megaloblasto-

sis y en mielodisplasia, con mayor presencia de las formas más inmaduras. Aun cuando es clásico describir los islotes eritroides centrados por un macrófago “nodriza”, esto es difícil de observar en los cortes, siendo mucho más fácil su hallazgo en las extensiones citológicas. Sobre todo los eritroblastos más maduros, policromatófilos y ortocromáticos pueden ser muy similares a los linfocitos, por

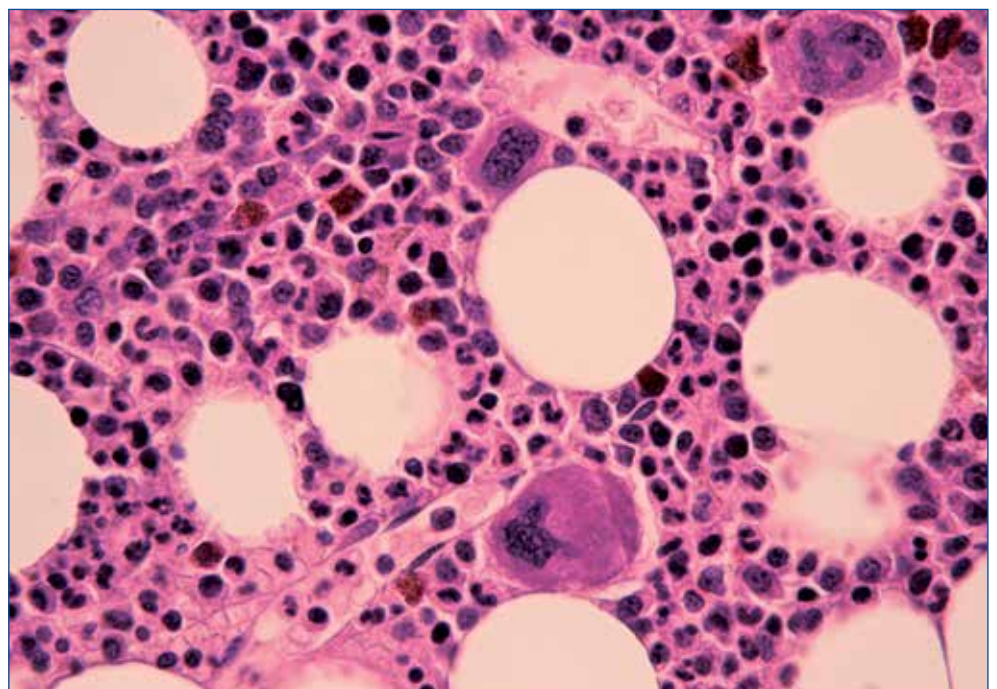


Figura 16. Médula discretamente hipercelular de composición normal; predominio de serie granulocítica. Se observan sinusoides y 3 megacariocitos (HE \times 400).

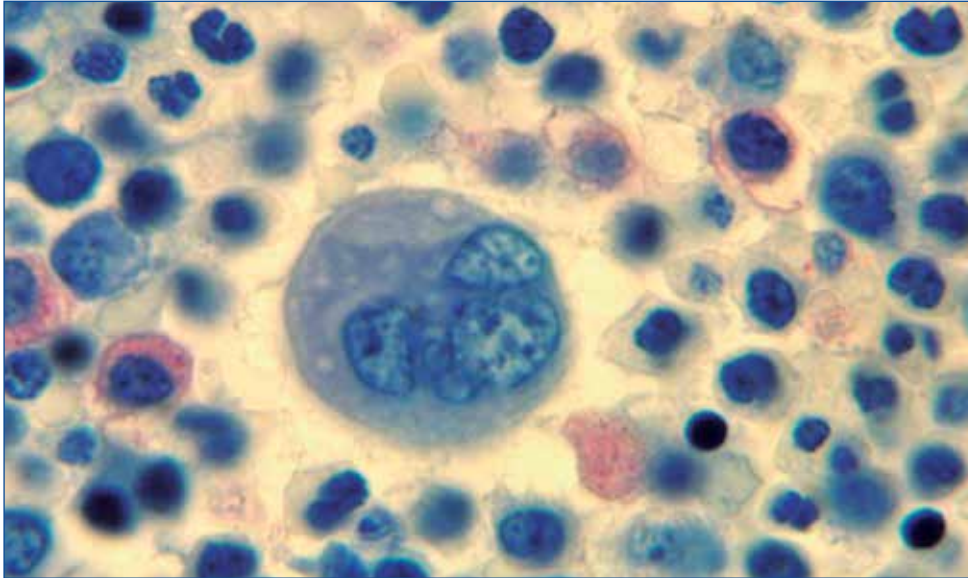


Figura 17. Imagen a gran aumento que permite apreciar claramente las características celulares de un megacariocito normal. Las células del núcleo densamente teñido son eritroblastos; el resto, granulocitos, algunos de ellos eosinófilos (Giemsa $\times 1.000$).

su tamaño y morfología, lo que suele ser un problema para los poco familiarizados. Solo hay que tener en cuenta 2 hechos para distinguir estas 2 células en los cortes: 1) los eritroblastos muestran cromatina muy densa, de aspecto “lacado”, como ya se ha mencionado, y estructura interna prácticamente irreconocible, mientras que esta se distingue bien en los linfocitos; y 2) los eritroblastos muestran las diferencias de tamaño ya señaladas, mientras que los linfocitos son todos del mismo pequeño tamaño. La calidad de las secciones y la tinción facilita mucho esta diferenciación.

Las células de estirpe granulocítica completan la celularidad medular mayor. Puede distinguirse claramente la segmentación o presegmentación nuclear en segmentados, cayados y metamielocitos, y las células más inmaduras, promielocitos y mieloblastos, se distinguirán por menor basofilia citoplasmática que los eritroblastos. La granulación eosinófila es birrefringente y llama la atención en la coloración de Giemsa^(3,5,9-13) (Figuras 14 a 16, 19 y 20).

Existe una **topografía** especial de las 3 series hematopoyéticas mieloides: así, los megacariocitos se situarían principalmente en torno a los sinusoides, los islotes eritroblásticos en situación central medular y los precursores

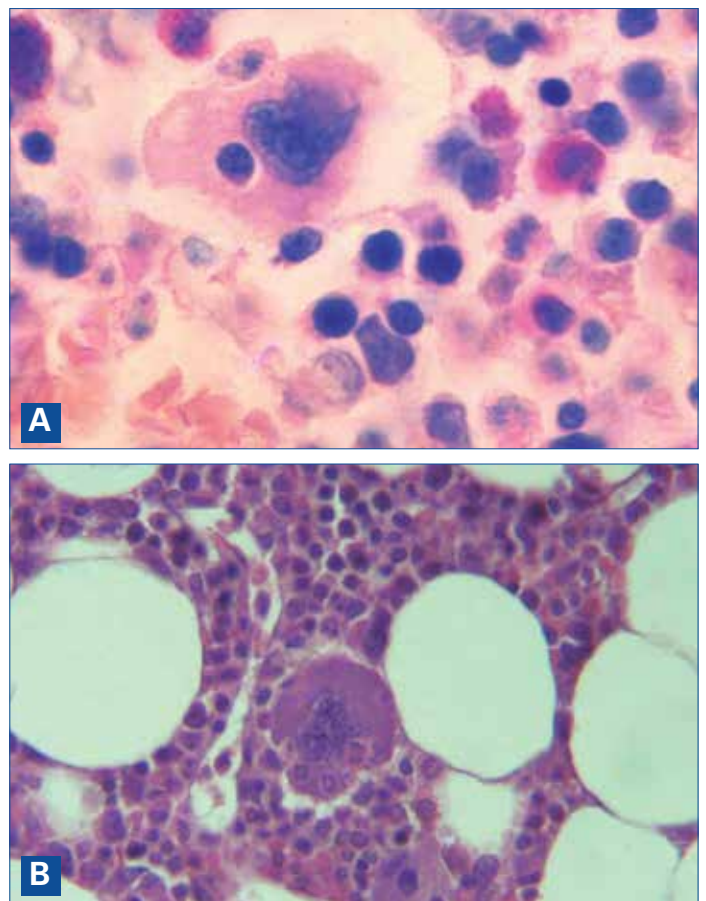


Figura 18. A: biopsia de médula ósea a gran aumento que muestra un megacariocito con emperipolesis de un linfocito (HE $\times 1.000$); B: en el centro se observa un megacariocito que exhibe intensa actividad de emperipolesis, hasta 4 granulocitos internalizados y alguno iniciando el proceso (HE $\times 400$).

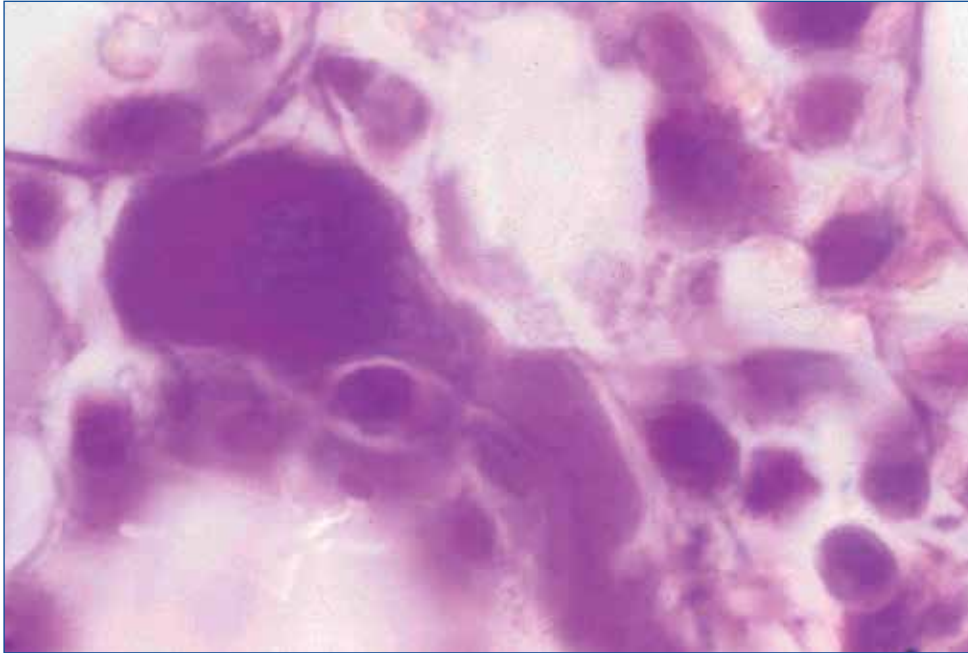


Figura 19. Vista de un megacariocito en el momento en que se deforma para introducir una expansión citoplasmática en una luz sinusoidal, donde verterá su producción de plaquetas (PAS × 1.000).

granulocíticos más bien en la zona paratrabecular, mientras que células granulocíticas más diferenciadas pueden verse en el centro del espacio medular⁽¹⁴⁾ (**Figuras 22 y 23**). No obstante, estos hechos no son siempre fácilmente distinguibles, por no decir que su reconocimiento es habitualmente difícil; en nuestra opinión, es más bien una “doctrina” útil más para ser tomada en cuenta en situaciones de

gran alteración de esta teórica topografía, como es el caso de la situación anormal de los granulocitos más inmaduros en la zona centromedular.

Además de progenitores granulocíticos, megacariocitos y eritroblastos, hay en la médula macrófagos, mastocitos, células plasmáticas y linfocitos. Las células cebadas son escasas en condiciones normales, su granulación es metacromática y se ve

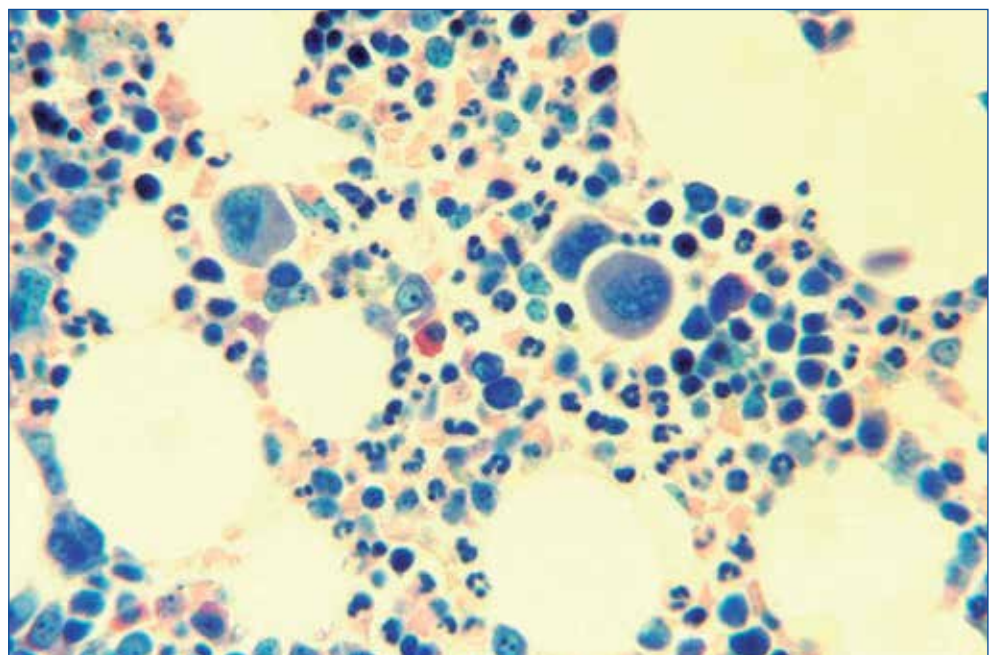


Figura 20. Composición celular normal de la médula ósea. Se observan 3 megacariocitos centrales, abundante celularidad granulocítica e islotes eritroblásticos (núcleo denso y teñido) arriba y junto al megacariocito de la derecha (Giemsa × 400).

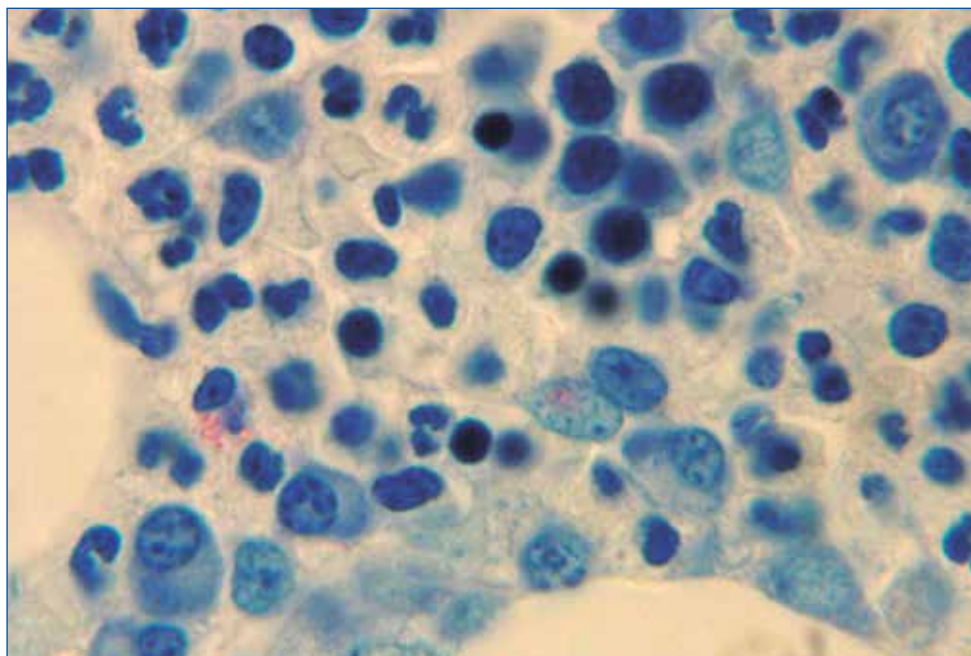


Figura 21. Visión a gran aumento de un islote eritroblástico, con elementos de distinta talla y núcleos intensamente teñidos, sin que se aprecie la estructura cromatinica. Se observan algunos plasmocitos y granulocitos semimaduros (Giemsa $\times 1.000$).

Figura 22. Esquema de la histotopografía de la hematopoyesis: islotes eritroblásticos en posición centromedular, megacariocitos en localización parasinusoidal y precursores granulocíticos en la zona paratrabecular.

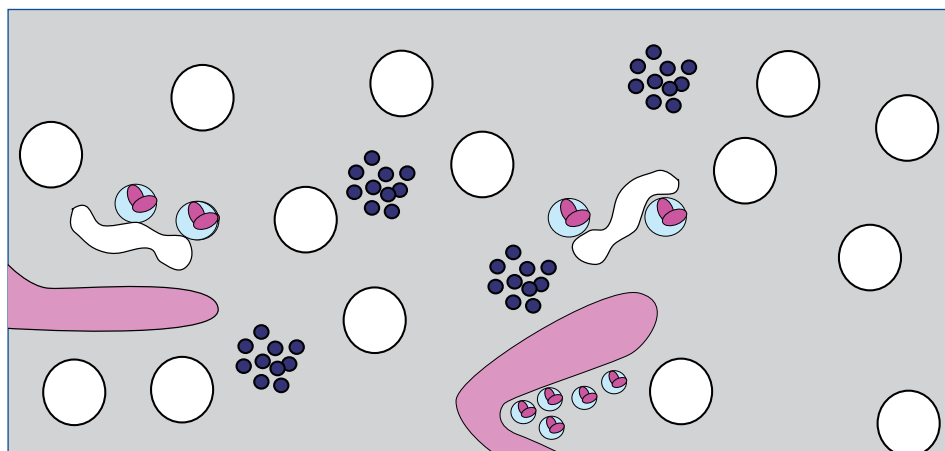
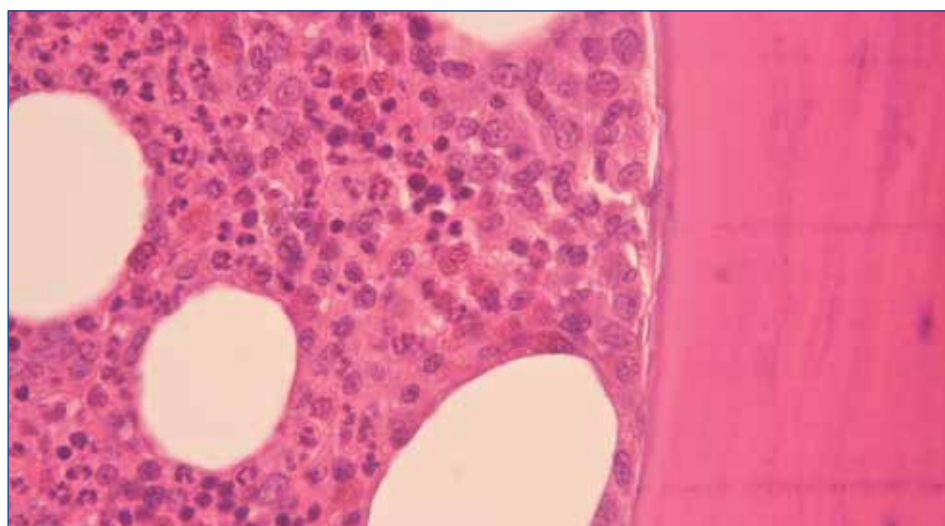


Figura 23. Localización normal (paratrabecular) de los precursores inmaduros granulocíticos (LNPI), células grandes de cromatina laxa (en contraposición estaría la localización anormal de precursores inmaduros –LAPI–) (HE $\times 400$).



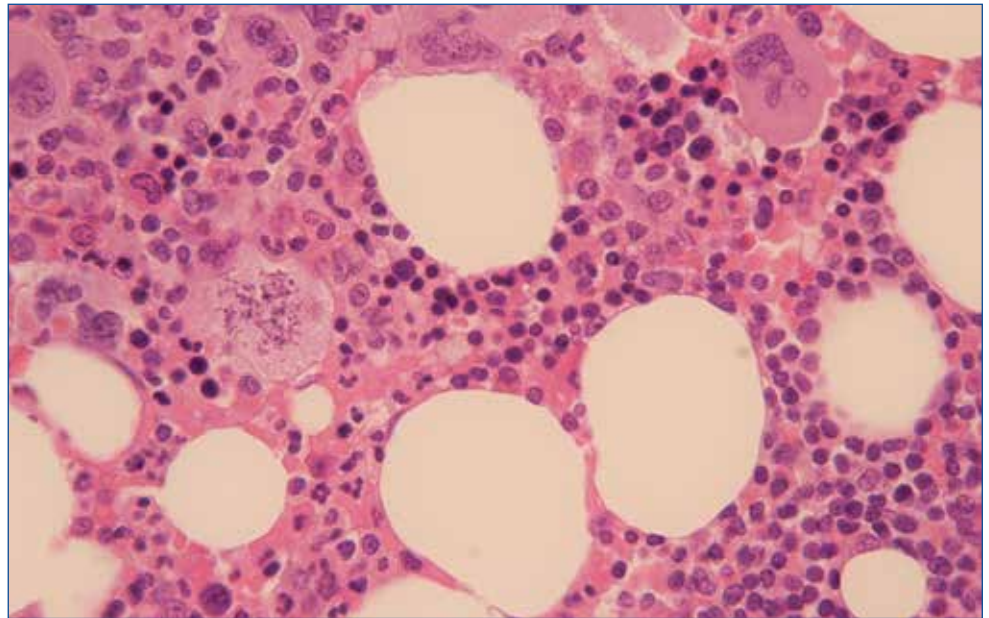


Figura 24. Linfocitos normales en situación intersticial (derecha de la foto). Nótese la diferencia con los eritroblastos en el centro y a la izquierda. Obsérvese una mitosis de megacariocito (HE $\times 400$).

bien en la tinción de Giemsa con un característico color púrpura. Pueden adoptar morfología redondeada o mostrar prolongaciones citoplasmáticas. En la médula existen linfocitos T y B, los primeros en proporción algo mayor. Los linfocitos pueden disponerse de forma intersticial (**Figura 24**), más o menos focal, o en forma de agregados o nódulos linfoides. Agregado es un grupo generalmente

pequeño y sin contorno redondeado, y nódulo un acúmulo redondeado, con bastantes más células y que generalmente contiene un pequeño vaso. Estos nódulos linfoides fisiológicos contienen linfocitos T y B (CD3 y CD20 +, respectivamente, que no siempre siguen la misma distribución en el conjunto del nódulo, situándose los linfocitos T a veces en el centro y a veces en la periferia de aquel) (**Figuras**

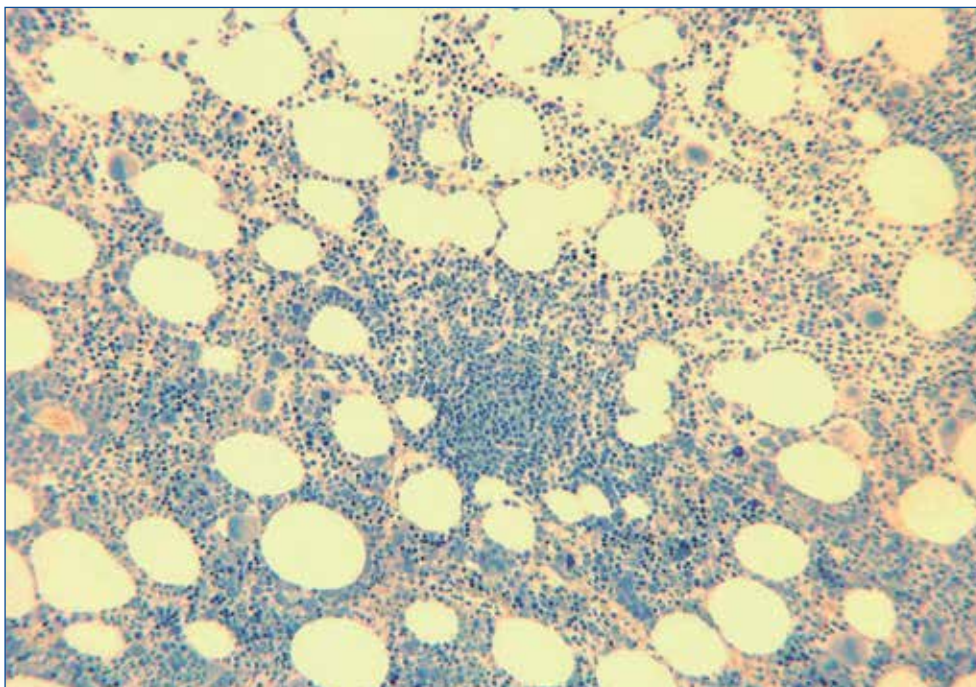


Figura 25. Pequeño agregado linfoide fisiológico en posición centromedular (Giemsa $\times 100$).

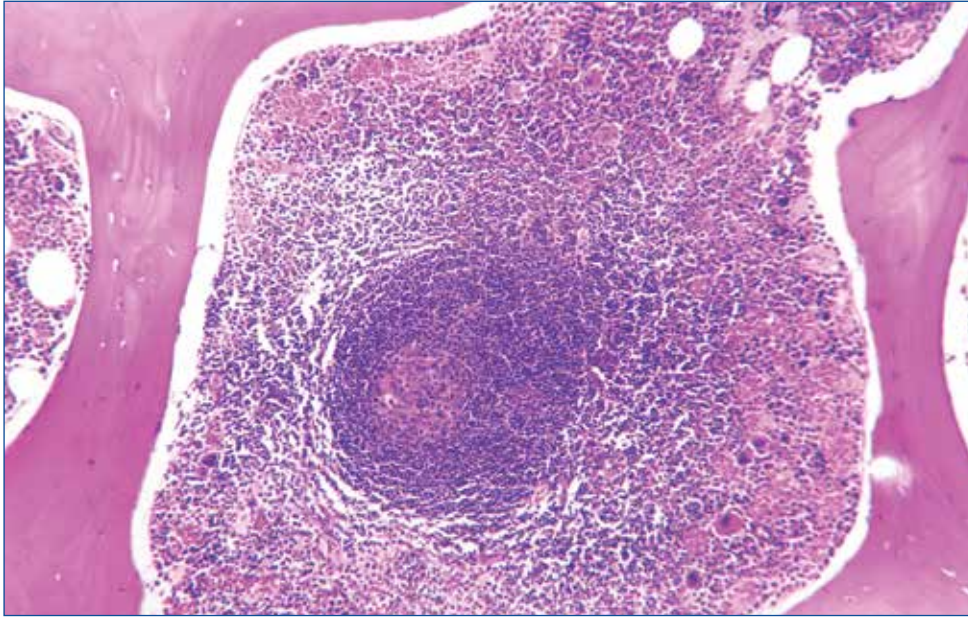


Figura 26. Folículo linfoide reactivo, con centro germinativo claro (HE $\times 100$).

25 a 27). Es normal observar 1 o 2 nódulos o agregados linfoides en un cilindro y ello es más frecuente en sujetos mayores⁽¹⁴⁾. Sobre su diferenciación con los infiltrados linfomatosos nodulares, véase el capítulo de biopsia de médula ósea en linfomas. Las células plasmáticas aparecen salteadas en disposición intersticial y frecuentemente alineadas en la pared externa de los capilares en una muy característica imagen. Típicamente, poseen un citoplasma basófilo por su riqueza en ribosomas, un halo claro paranuclear o arcoplasma que aloja el Golgi y un núcleo excéntrico de cromatina aglomerada, lo que les da la forma, en las secciones histológicas, de rueda de carro o esfera de reloj, no visible en las extensiones citológicas. La inmunohistoquímica con anti-CD138 permite su neta detección, aun cuando la morfología convencional es suficientemente expresiva (**Figuras 21, 28 y 29**); los macrófagos, sin embargo, son más visibles en los aspirados que en las biopsias medulares, por lo que su marcado con anti-CD68 resulta muy llamativo, detectando su abundancia en el intersticio y característico aspecto dendroide o estrellado (**Figura 30**). La tinción de hierro (Perls) también permite detectar fácilmente los macrófagos que con-

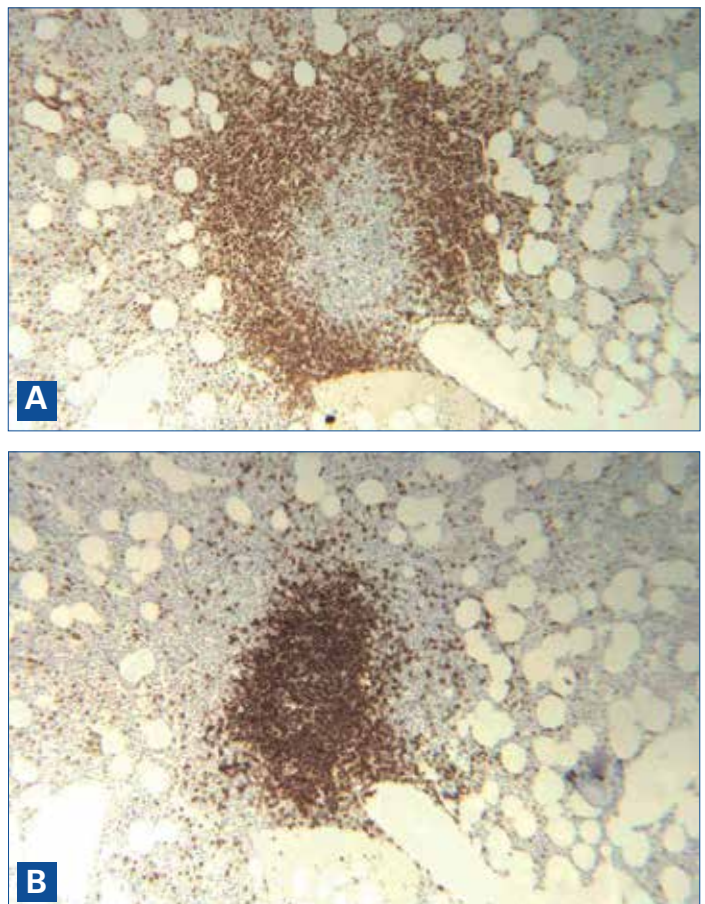


Figura 27. A: folículo linfoide normal de la médula ósea. Periferia de linfocitos B; B: centro compuesto por linfocitos T (anti-CD20 y anti-CD3, respectivamente, $\times 100$).

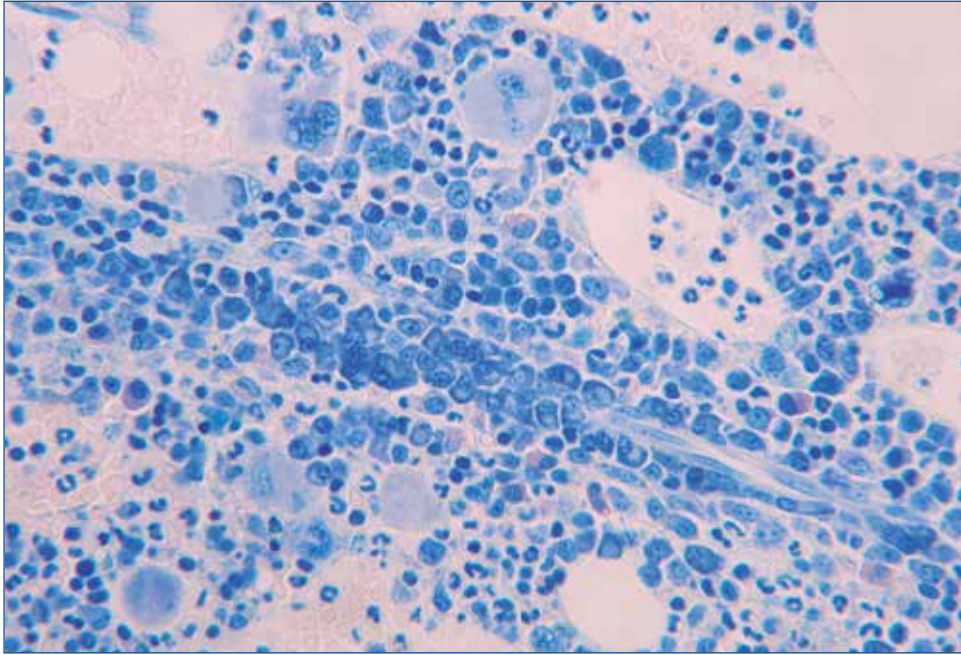


Figura 28. Un capilar atraviesa la imagen (véanse las células endoteliales), flanqueado por un manguito de células plasmáticas normales. Celularidad hematopoyética normal (Giemsa $\times 400$).

tienen hierro en su citoplasma (**Figura 31**) (véase el capítulo 3).

1.1.2.2. Estroma medular

Consideramos como componentes del estroma el almacén reticulínico, los vasos y nervios, y algunas células mesenquimales como los fibroblastos y las células reticulares.

1.1.2.2.1. Vasos

En el tejido medular llaman la atención a pequeño o mediano aumento los sinusoides, espacios vasculares terminales en los que podríamos ubicar la “barrera mielohemática”; a través de la cual las células resultantes de la hematopoyesis (pero no en condiciones normales sus precursoras) se incorporan a la circulación. Los distinguimos como espacios claros, más o menos curvos y alargados, con una

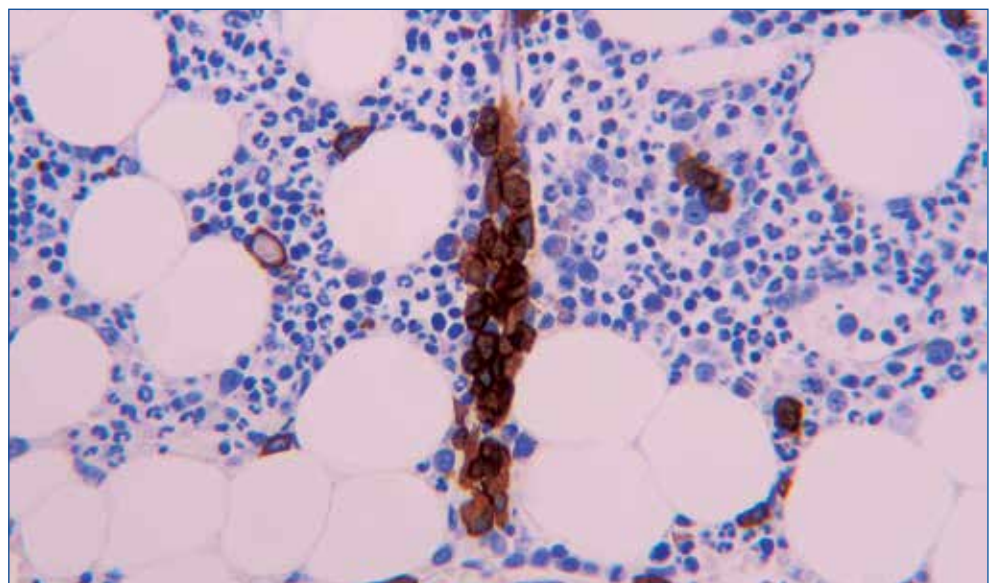


Figura 29. Otro manguito pericapilar de plasmocitos; estos se destacan por inmunohistoquímica por anti-CD138 ($\times 400$).

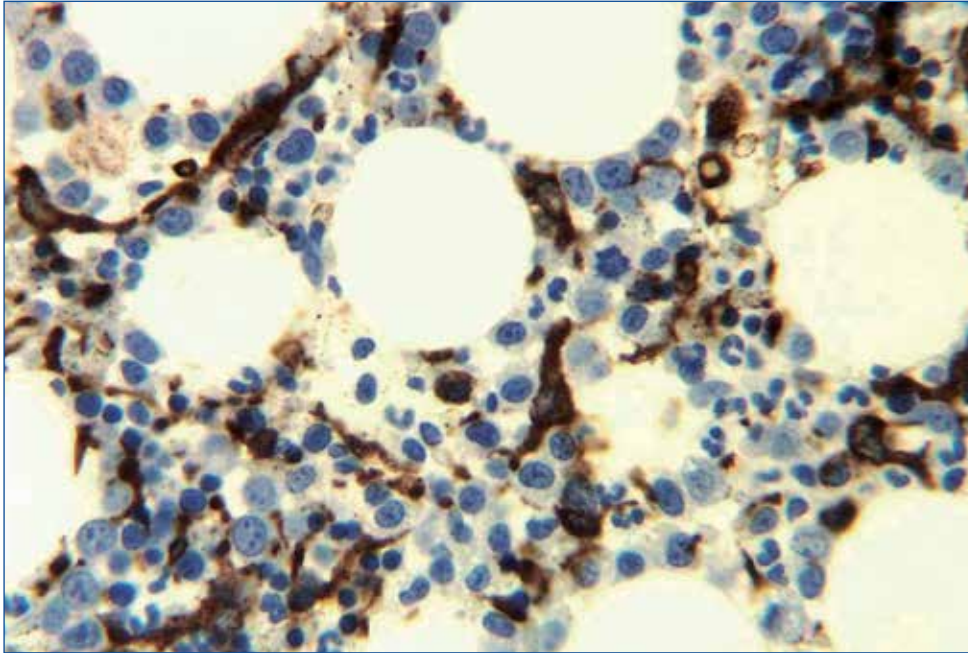


Figura 30. El sistema mononuclear fagocítico se pone claramente de manifiesto con anti-CD68. Véase el aspecto estrellado de los macrófagos y su abundancia en el intersticio normal (anti-CD68 $\times 1.000$).

única capa de células endoteliales distinguible por los núcleos alargados, adaptados a la pared, y una membrana basal sobre un fino lecho de fibras reticulínicas. La superficie externa de los sinusoides se halla cubierta por células adventicias derivadas de los fibroblastos y se asocian a una delicada red de fibras extracelulares positivas a la tinción de reticulina⁽¹⁴⁾; finalmente, su interior presenta células de la sangre de todos los tipos, resultando especialmen-

te llamativos los hematíes. Este contenido celular permite distinguir los sinusoides de adipocitos más o menos deformados. Las tinciones inmunohistoquímicas con CD34, CD38, CE31 y factor VIII son de ayuda para valorar la mayor o menor abundancia de sinusoides (**Figuras 32 a 35**).

Además de sinusoides, hay en la médula pequeños capilares que ocasionalmente pueden aparecer (especialmente en los cortes longitudinales) flan-

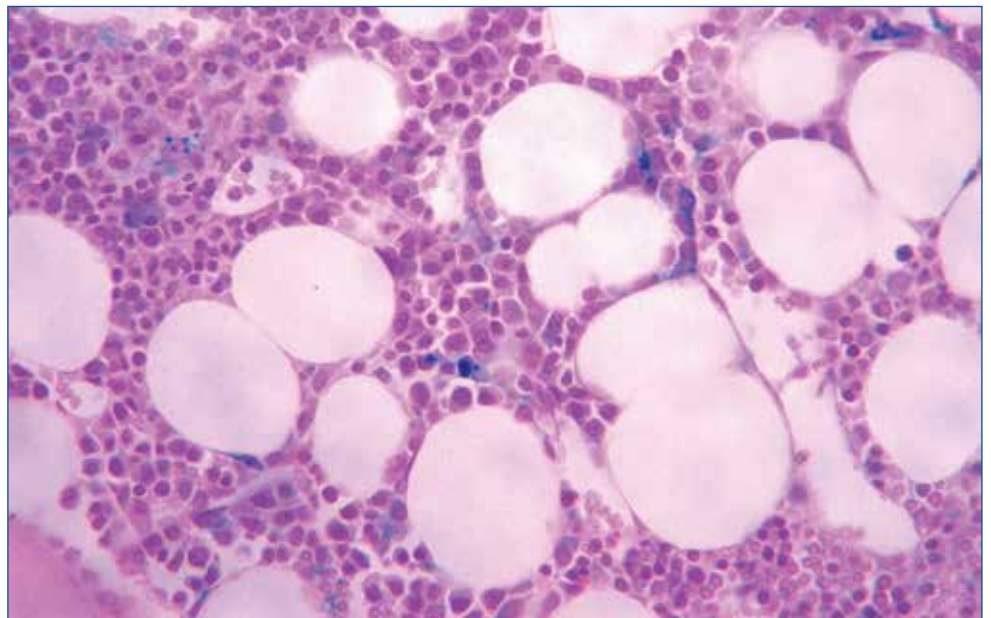


Figura 31. También la tinción de hierro permite detectar los macrófagos medulares que lo contienen en proporción normal (hemosiderinófagos) (Perls $\times 400$).

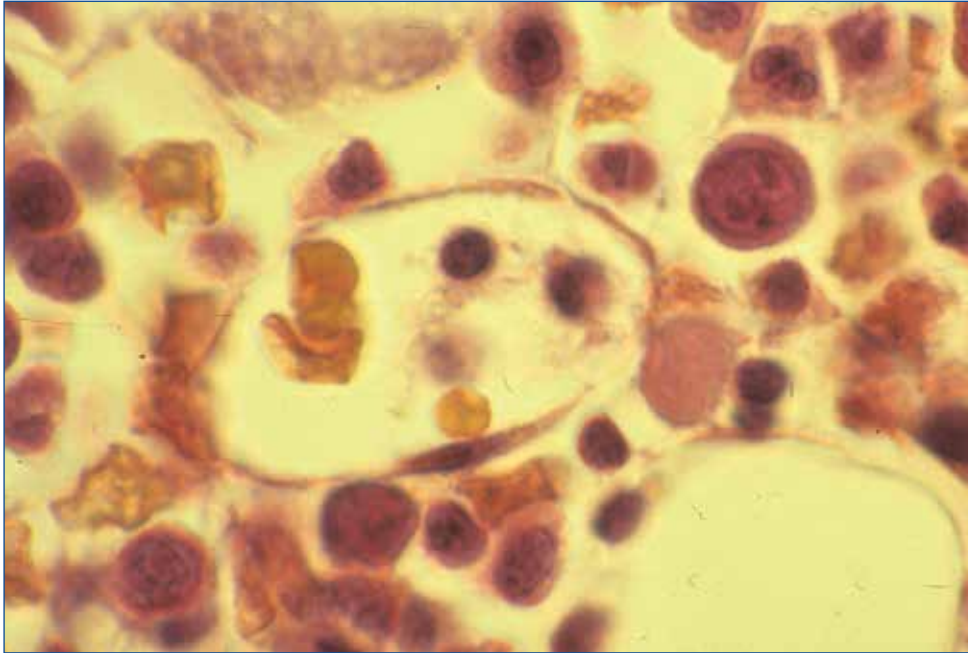


Figura 32. Un sinusoides medular, de forma oval. Obsérvese la célula endotelial y sus expansiones que delimitan su luz, y las células sanguíneas en su interior (Tricrómico de Masson $\times 1.000$).

queados por el "rosario" de plasmocitos descrito más arriba (**Figuras 28 y 29**); finalmente, veremos algún vaso (arteriolas y vénulas) con pared muscular (**Figuras 36 a 38**) y, más raramente, estructuras nerviosas (extremadamente difíciles de observar), apreciables generalmente en médulas hipoplásicas (**Figura 39**).

1.1.2.2.2. Armazón reticulínico

Es el soporte de todo el conjunto celular hematopoyético. Podríamos imaginarlo como una red que se extiende entre las adventicias de los vasos y el endostio. Este armazón es visible con las tinciones argénticas para reticulina (Wilder, Gomori) y también se pone

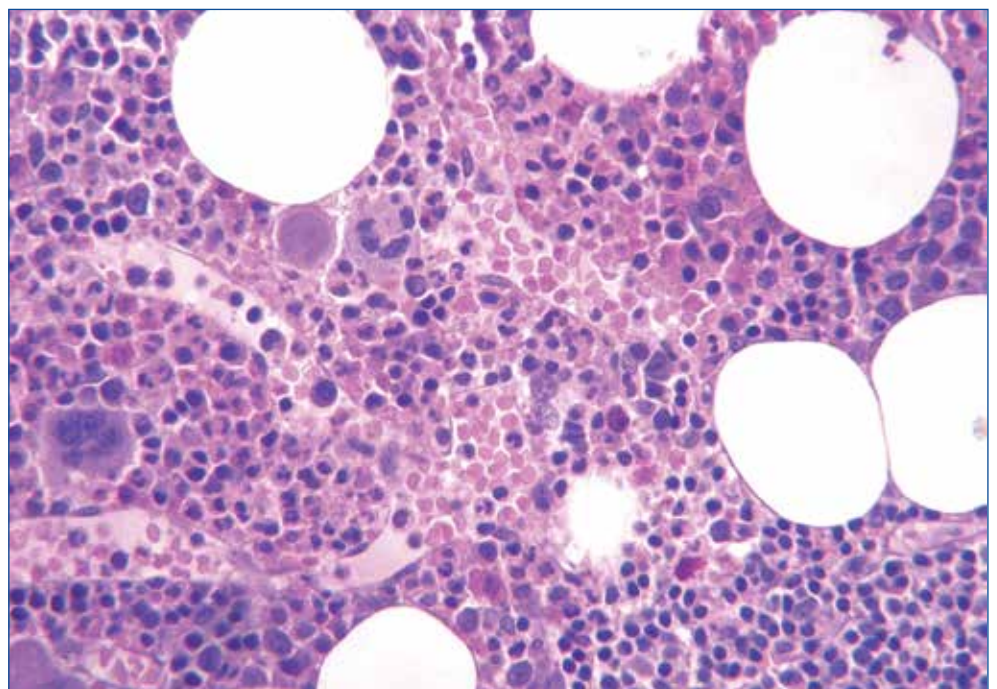


Figura 33. Varios sinusoides algo ectásicos. En la parte inferior derecha, parte de un acúmulo linfóide normal de la médula (HE $\times 200$).

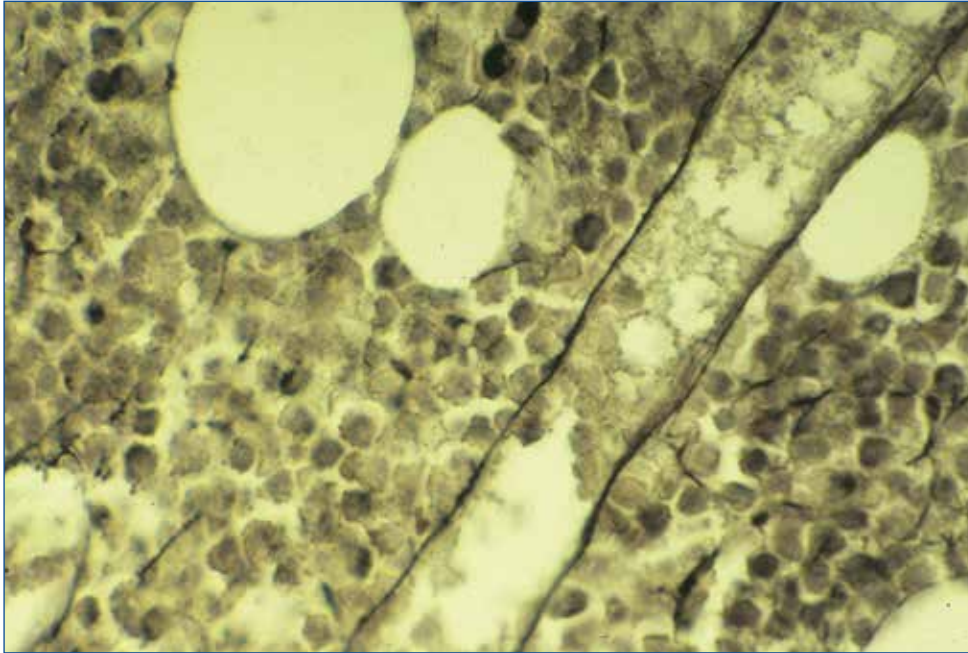


Figura 34. Cruza la preparación verticalmente un amplio sinusoide, cuya membrana basal es perceptible mediante la tinción argéntica (Reticulina de Wilder $\times 1.000$).

mejor de manifiesto en médulas aplásicas o hipoplásicas (**Figuras 40 y 41**). En condiciones normales, solo observamos fibras de reticulina en torno a los vasos y muy tenuemente alrededor de las células grasas y en el parénquima. Las fibras interparenquimatosas de la médula ósea normal solo son visibles con ob-

jetivos de aumento mediano o grande, pasando prácticamente desapercibidas al aumento de lupa (**Figura 38**). Mediante las tinciones tricrómicas de Masson o Van Gieson en la médula normal, solo se observan fibras "colágenas" (en verde o rojo, respectivamente) en la adventicia de los vasos (**Figuras 37 y 38**).

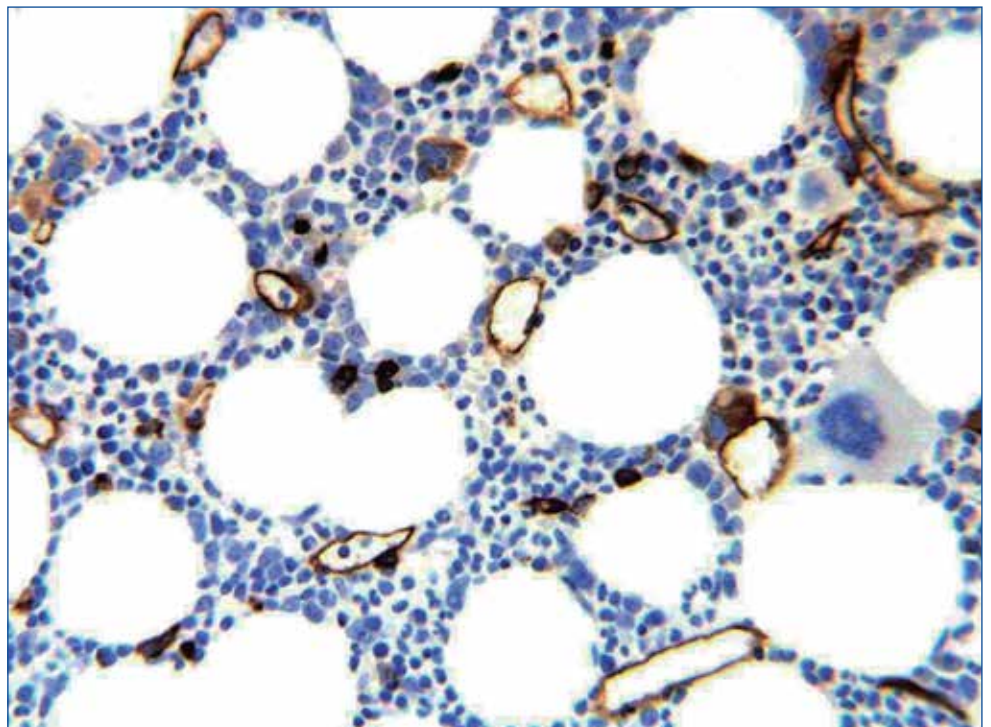


Figura 35. Demostración de múltiples luces sinusoidales mediante inmunohistoquímica de células endoteliales por CD34 ($\times 400$).

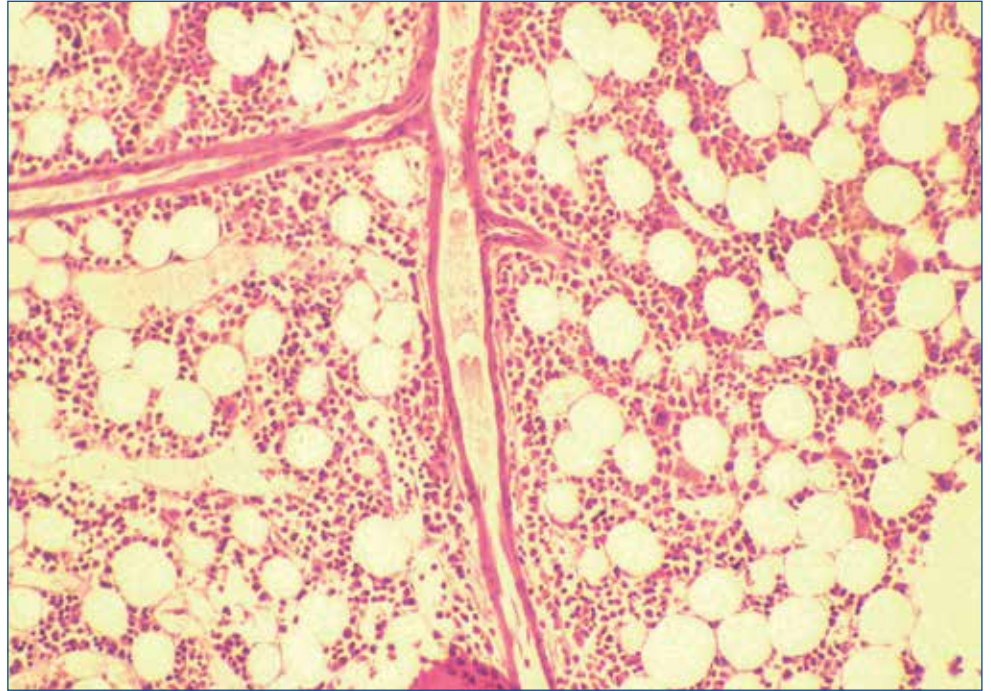


Figura 36. Confluencia de largos vasos de pared arterial en corte sagital (HE \times 100).

2. Principales artefactos en las biopsias medulares

Como en cualquier otra técnica, en el procesamiento de los cilindros de BM pueden darse diversos artefactos,

desde aquellos que invalidan prácticamente los cortes para su lectura, hasta los que constituyen una anécdota, a veces curiosa, que no interfiere la interpretación de la biopsia, aunque deben evitarse. Se describen a continuación algunos de los más habituales.

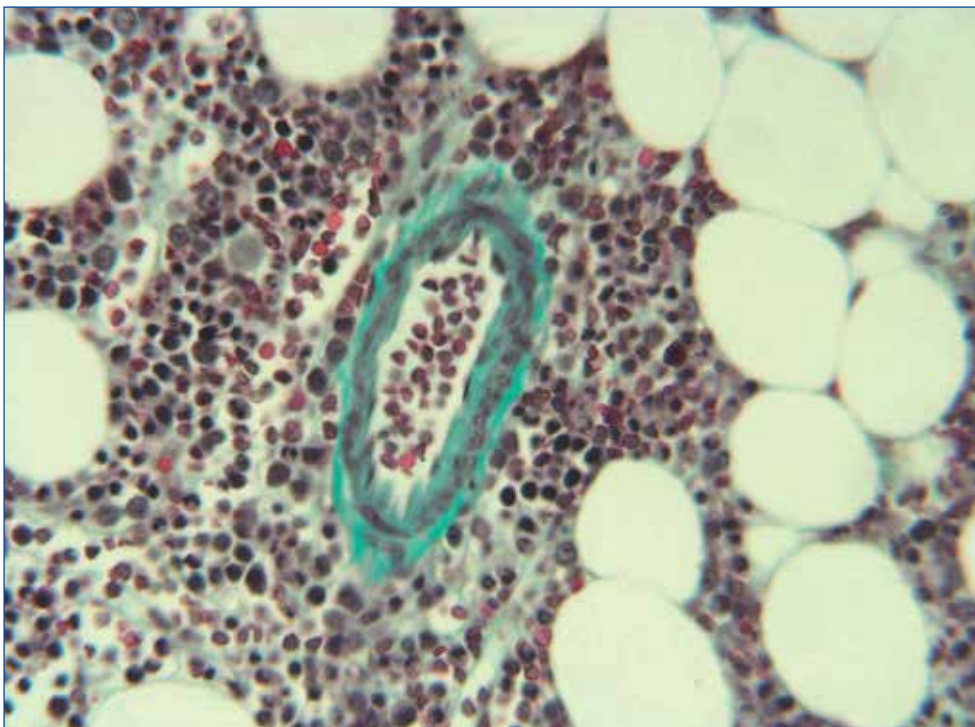


Figura 37. Gran vaso de pared arterial. El tricrómico permite apreciar (en verde) el colágeno de la adventicia (Tricrómico de Masson \times 400).

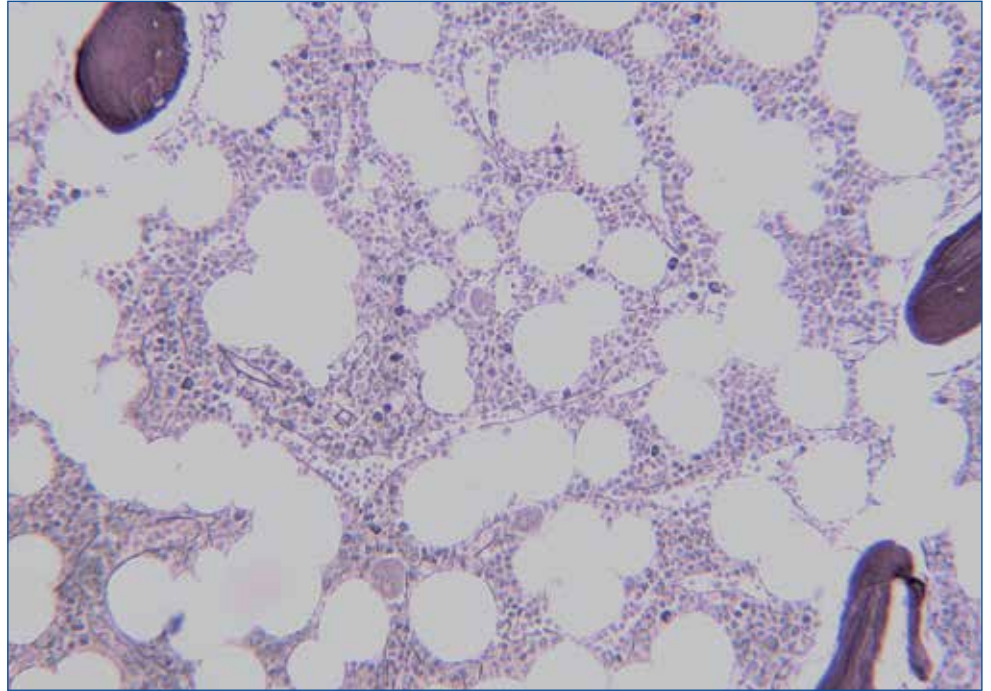


Figura 38. Trama reticulínica normal de la médula ósea; se observan solo algunas fibras en torno a los vasos sanguíneos (Reticulina de Wilder $\times 250$).

2.1. Relacionados con la manipulación del cilindro

- **Expresión de la médula ósea:** los intentos de extraer un cilindro de un trocar de diseño inapropiado o en sentido de la punta del trocar pueden dar

lugar a una alteración de la morfología de los espacios medulares, que aparecen comprimidos entre las trabéculas óseas; el tejido aparecerá compacto, con células superpuestas, con aspecto pseudofibrótico, etc., y todo ello dificulta notablemente la

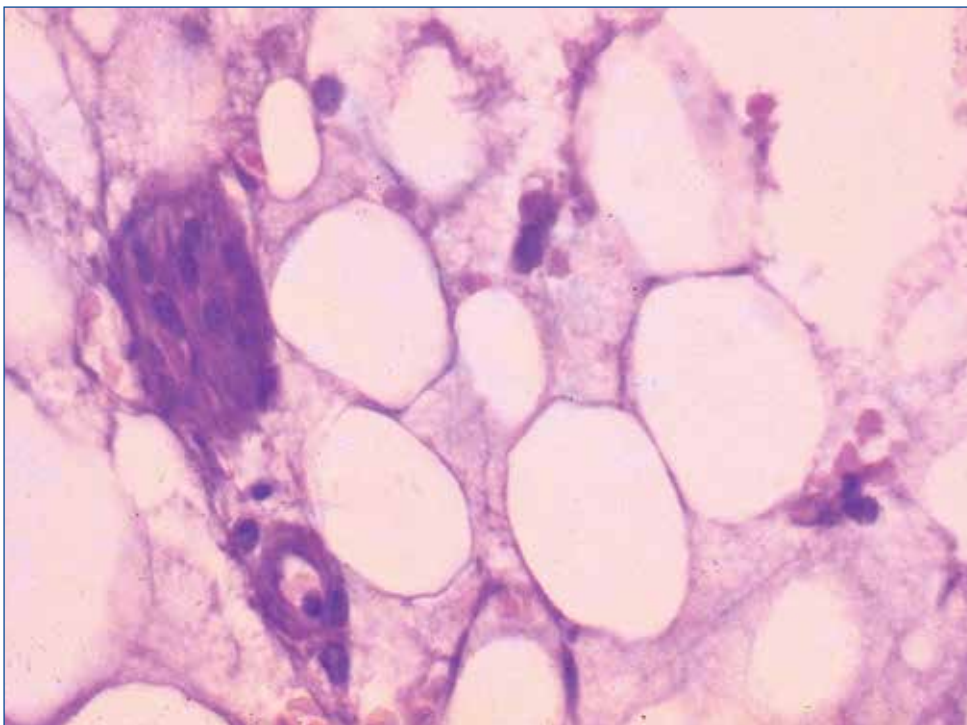


Figura 39. Rara observación de un nervio de la médula ósea facilitada por la depleción celular en una aplasia medular; se observan claramente las células de Schwann. Bajo la estructura nerviosa, un vaso en corte transversal. Observación del Prof. L. Díaz Flores (HE $\times 400$).

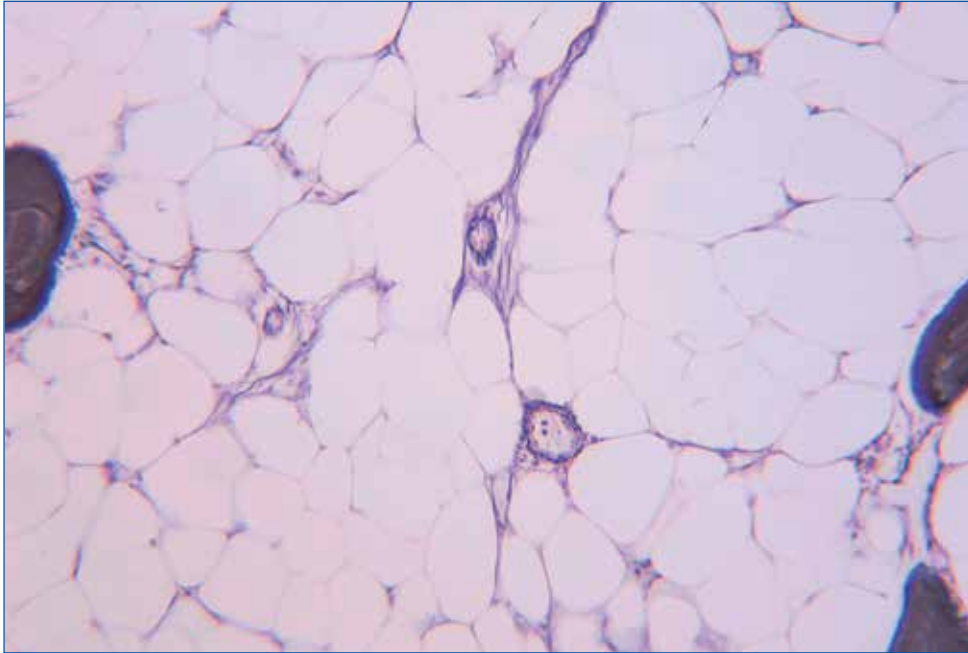


Figura 40. Armazón reticulínico de la médula ósea, puesto de manifiesto gracias a la hipocelularidad en una aplasia medular. El armazón se tiende, a manera de red, desde la adventicia de los vasos a las trabéculas óseas (Reticulina de Wilder $\times 400$).

lectura^(15,16) (Figura 42), de forma que una biopsia así artefactada en una extensión considerable debe desecharse para el diagnóstico.

- **Hemorragia y edema del tejido:** relacionado también con el empleo de trocares no adecuados o imperfectos, o de maniobras violentas, la médula aparecerá con grandes extensiones infiltrantes de sangre o líquido intersticial.

- **Compactación de material óseo:** en ocasiones, polvillo óseo, procedente del trauma bióptico, puede acumularse en algún lugar del cilindro o en sus bordes, dando apariencia a primera vista y pequeño aumento de una lesión proliferativa o un granuloma; la observación atenta permite identificar el material como restos trabeculares (Figura 43).

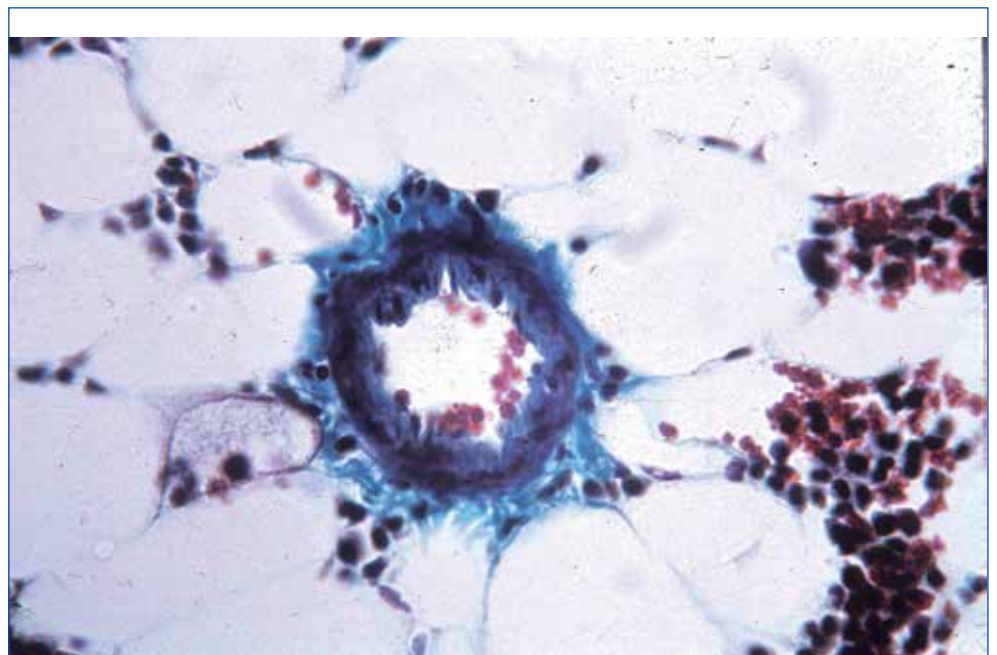


Figura 41. El tricrómico (y la aplasia) permiten apreciar el anclaje del armazón medular en la adventicia de un gran vaso; junto a él, a la izquierda, un pequeño sinusoide (Tricrómico de Masson $\times 1.000$).

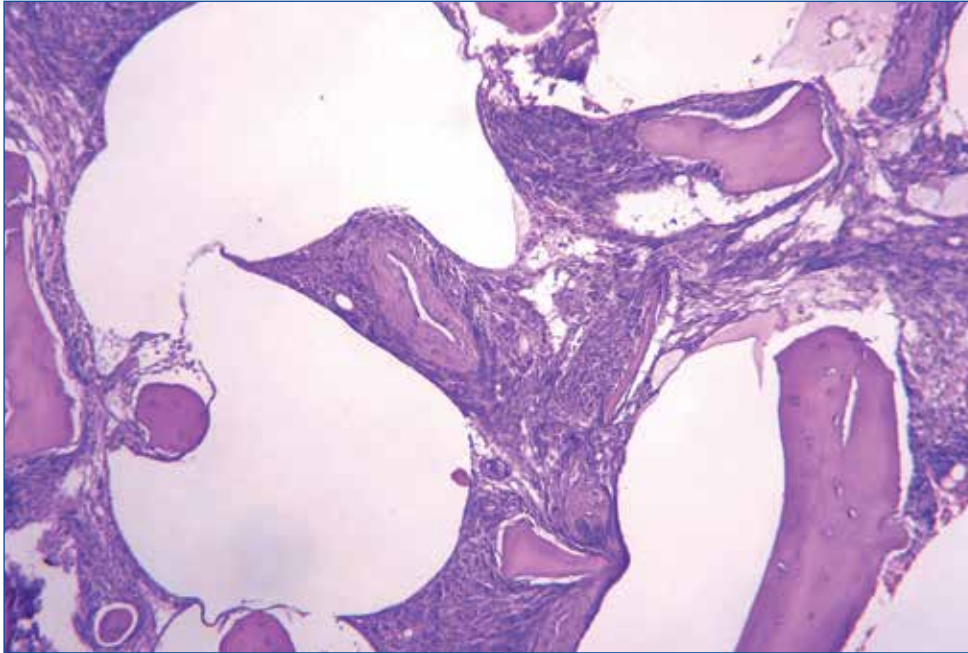


Figura 42. Artefacto por compresión o expresión de la médula ósea. La médula aparece compactada y retraída, con aspecto pseudofibrótico, no válida para su examen (HE $\times 100$).

2.2. Relacionados con los métodos histológicos

- **Separación de la médula y el endostio:** un artefacto muy frecuente, no siempre evitable, que no existe en las biopsias procesadas por inclusión en plástico, pero que es muy frecuente en las biopsias decalcificadas; se debe a decalcificación insu-

ficiente, por lo que la interfase entre el tejido óseo y medular muestra diferente resistencia al corte y, por ende, separación. No dificulta la lectura de la biopsia, pero sí es antiestético y limita la presentación de imágenes.

- **Arrancamiento de trabéculas:** una o varias trabéculas se levantan, apareciendo rotas o dobla-

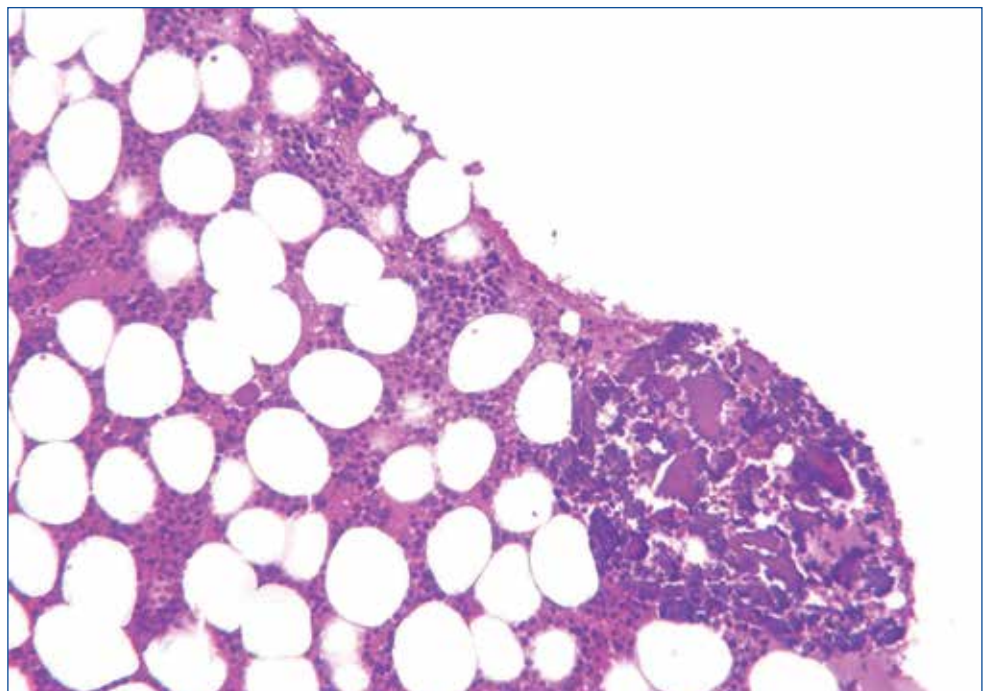


Figura 43. Artefacto por compactación de polvillo óseo en el borde del cilindro, con aspecto pseudonodular (HE $\times 200$).



Figura 44. Artefacto por inclusión de piel del paciente procedente del área de la punción (Giemsa $\times 200$).

das en ángulo sobre sí mismas; este artefacto, que dificulta a veces la correcta lectura de la biopsia al cubrir un campo de interés diagnóstico, tiene un origen similar al anterior. En el caso de las técnicas

histoquímicas, que requieren limitación de la decalcificación, prácticamente se considera normal que las secciones aparezcan sin trabéculas, al menos en zonas.

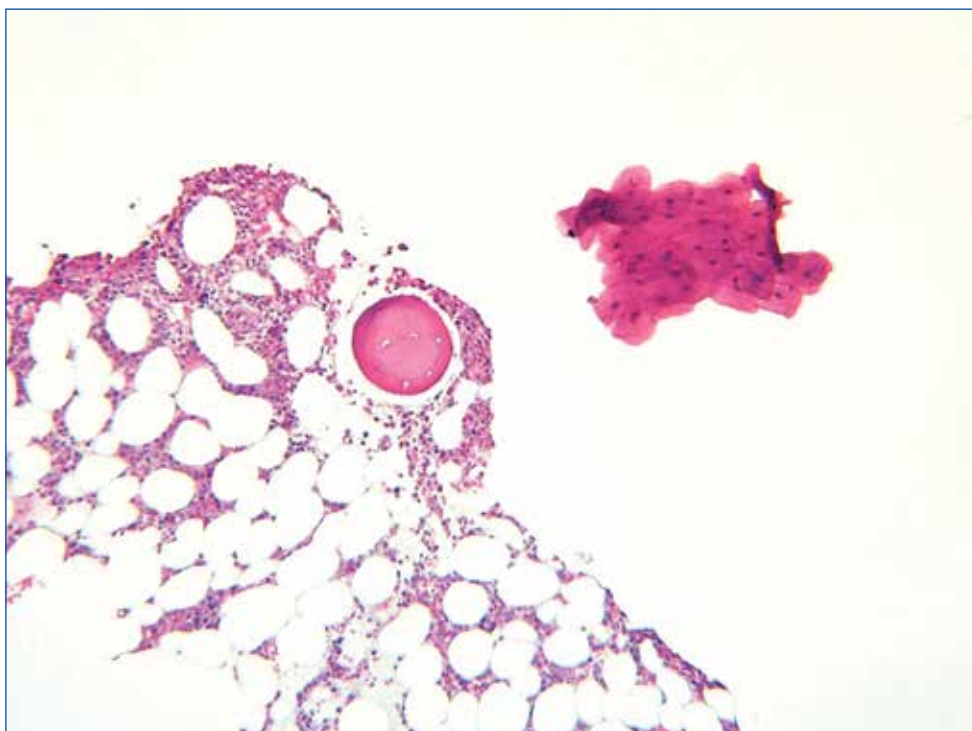


Figura 45. Artefacto por presencia en la preparación de células epiteliales (tal vez de las manos del técnico) o contaminando el material de tinción (HE $\times 100$).

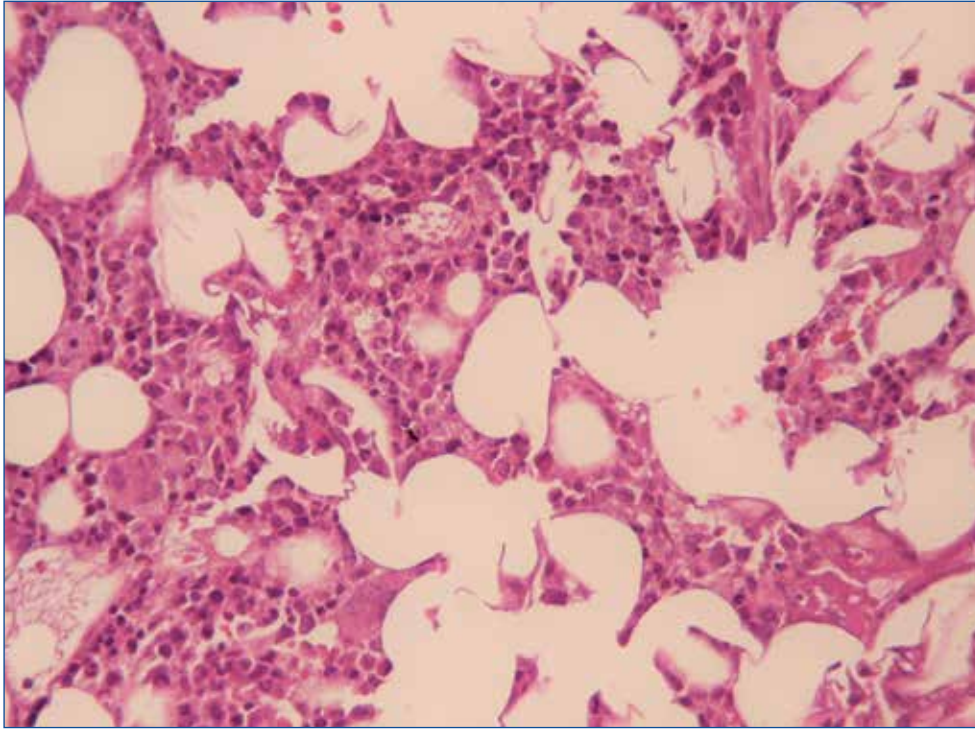


Figura 46. Artefacto debido a manipulación del corte histológico (deformación de la morfología de las células grasas) (HE \times 200).

• **Presencia de tejidos no osteomedulares:** a menudo se observan tejidos distintos del hueso y correspondiente médula. Lo más frecuente es encontrar fragmentos de piel del propio paciente cercana al cilindro. La piel ha sido arrancada y arrastrada por el trocar. Este artefacto es evitable si se realiza un pequeño corte antes de introducir la aguja de biopsia (Figura 44). Pero también a veces hemos observado células epiteliales adyacentes a la sección del cilindro o vellosidades intestinales, que solo pueden obedecer a contaminación en las cubetas de tinción por restos de otros tejidos (Figura 45).

• **Deformación de las células grasas por manejo del corte:** puede deparar imágenes tan extrañas como la de la Figura 46.

Como se señalaba al principio, se debe tener especial cuidado, pues algunas biopsias así artefactadas pueden no ser válidas para su lectura.

3. Bibliografía

1. Gruppo RA, Lampkin BC, Granger S. Bone marrow cellularity determination: comparison of the biopsy, aspirate, and buffy coat. *Blood*. 1977;49:29-31.
2. Bartl R, Frisch B, Burkhardt R. Bone marrow biopsies revisited. Karger; 1982.
3. Frisch B, Lewis SM, Burkhardt R, Bartl R. Biopsy pathology of bone and bone marrow. Nueva York: Raven Press; 1985.
4. Kerndrup G, Pallensen G, Melsen F, Mosekilde L. Histomorphometric determination of bone marrow cellularity in iliac crest biopsies. *Scand J Haematol*. 1980;24:110-4.
5. Mooning MT, Porwitt A. Normal bone marrow histology. 2015. Disponible en: <http://clinicalgate.com/normal-bone-marrow-histology>.
6. Frisch B, Bartl R. Atlas of bone marrow pathology. Kluwer Academic Publishers; 1990.
7. Hashimoto M. Pathology of bone marrow. *Acta Haemat*. 1962;27:193-16.
8. Thiele J, Fischer R. Megakariocytopoiesis in human disorders: diagnostic features of bone marrow biopsies. An overview. *Virchows Archives (A)*. 1991;418:87-9.
9. Tavasoli M, Aoki M. Localization of megakaryocytes in the bone marrow. *Blood Cells*. 1989;15:3-14.
10. Bain BJ, Clark DM, Lampert IA, Wilkins BS. Bone marrow pathology. 3th edition. Londres: Blackwell Science Ltd. Publications; 2001.
11. Hernández Nieto L, Álvarez Argüelles H, Carrasco Juan JL, García García M, Giraldo Castellano P, Raya Sánchez JM,

- et al. Biopsia de la médula ósea. Perspectiva clínico-patológica. Madrid: Acción Médica; 2006.
12. Hernández Nieto L. Papel de la biopsia de médula ósea en el diagnóstico y pronóstico de las hemopatías. *Haematologica*. 1997;82(Suppl 1):28-37.
13. Naeim F. Topobiology in hematopoiesis. *Hematol Pathol*. 1995;107-19.
14. Rywlin AM. *Histopathology of the bone marrow*. Boston: Little Brown and Company; 1976. pp. 95-110.
15. Douglas DD, Risdall RJ. Bone marrow biopsy technique. Artifact induced by aspiration. *Am J Clin Pathol*. 1984;82:92-4.
16. Duhamel G. *Histopathologie Clinique de la Moelle Osseuse*. París: Masson et Cie; 1974.

La biopsia de médula ósea en la aplasia medular y situaciones afines

José María Raya Sánchez, Taida Martín Santos

1. Introducción

El término **insuficiencia medular** se suele utilizar para describir el fallo en la función primordial de la médula ósea, que no es otra que la hematopoyesis, es decir, la producción apropiada de células sanguíneas no solo en cantidad normal, sino además con un funcionalismo adecuado. Hablamos de **aplasia medular** cuando esta insuficiencia tiene que ver con un defecto cuantitativo en la producción de dichas células sanguíneas, con la presencia en sangre de las correspondientes citopenias y el predominio neto del tejido adiposo sobre el hematopoyético en la médula ósea. Por su parte, hablamos de **displasia medular** cuando la producción hematopoyética no está mermada pero sí existe un defecto cualitativo, esto es, existe un problema en términos de funcionalidad, lo cual suele asociarse, además, a cambios morfológicos en las células precursoras hematopoyéticas, reconocibles al microscopio⁽¹⁾. Tanto en un caso (aplasia) como en otro (displasia), pueden tener lugar situaciones de fallo medular **global** (en el que todas las series están afectadas) o **parcial** (en el que es una línea celular concreta, ya sea eritroide, megacariocítica o granulocítica/monocítica, la alterada). A su vez, las insuficiencias medulares pueden reconocer un origen **congénito** o **adquirido**.

Este capítulo se centra fundamentalmente en la aplasia medular global adquirida, paradigma del

grupo de enfermedades medulares aplásicas, y también se hará referencia a situaciones patológicas que consideramos “afines” (aun cuando su patogenia pueda distar bastante de la de la aplasia medular global), como son la aplasia pura de serie roja, la agranulocitosis, la necrosis medular y la degeneración gelatinosa de la médula ósea. En capítulo aparte se estudian los síndromes mielodisplásicos (SMD).

2. Aplasia medular

2.1. Concepto

La aplasia medular constituye un trastorno heterogéneo en su etiología, pero uniformemente caracterizado por la disminución o desaparición de las células precursoras hematopoyéticas en la médula ósea y la existencia de bicitopenia o pancitopenia en sangre. En la literatura anglosajona clásicamente se la denomina *aplastic anaemia* (“anemia aplásica”), si bien ellos mismos reconocen que el término no es muy afortunado, pues, como sabemos, no solo la línea celular eritroide está implicada⁽²⁾. Como hemos mencionado, su naturaleza puede ser congénita o adquirida; en la [Tabla 1](#) se relacionan las causas principales de esta entidad.

La forma más frecuente de las aplasias medulares de origen congénito o constitucional es la ane-

Tabla 1. Causas de aplasia medular

Congénitas	<ul style="list-style-type: none"> · Anemia de Fanconi · Disqueratosis congénita · Síndrome de Shwachman-Diamond · Síndrome de Blackfan-Diamond (aplasia pura de serie roja congénita) · Trombocitopenia amegacariocítica · Síndrome de Dubowitz · Síndrome de Seckel · Síndrome de ataxia-pancitopenia
Adquiridas	<ul style="list-style-type: none"> · Fármacos · Productos químicos y tóxicos · Radiación ionizante · Agentes infecciosos (sobre todo virus) · Asociada a enfermedades autoinmunes · Enfermedad injerto contra huésped · Hemoglobinuria paroxística nocturna · Timoma · Gestación · Fascitis eosinofílica · Idiopática

mia de Fanconi, con una herencia predominante autosómica recesiva y caracterizada por una fragilidad cromosómica significativa y un defecto en los mecanismos de reparación del ADN. El test de fragilidad cromosómica (tanto espontánea como provocada con diepoxibutano o mitomicina C), que se realiza en sangre, es obligado en pacientes jóvenes (< 50 años) con citopenias no explicadas y/o con malformaciones características. En dos tercios de los pacientes son reconocibles anomalías somáticas (dermatológicas, esqueléticas, genitourinarias, gastrointestinales, cardíacas o neurológicas) y existe un riesgo significativo (sobre el 20%) de transformación leucémica. Habitualmente, las citopenias se instauran de forma paulatina hasta desarrollar pancitopenia entre los 5 y los 10 años de vida. Si bien se han descrito recuperaciones “espontáneas” en los recuentos hemoperiféricos, debido a una mutación secundaria adquirida que compensa la mutación congénita original, la mayor parte de los pacientes están expuestos a complicaciones infecciosas o hemorrágicas y, por ello, son candidatos a trasplante de progenitores hematopoyéticos. Desde un punto de vista morfológico, además del cuadro propio de aplasia medular en la biopsia, sue-

le observarse diseritropoyesis en grado variable en el examen citológico.

Pero, en la gran mayoría de las ocasiones, la aplasia medular es una enfermedad adquirida, ya bien sea idiopática o secundaria a un factor etiológico reconocido como los expuestos en la [Tabla 1](#). Su incidencia en nuestro medio se estima en 2-3 casos nuevos por millón de habitantes y año, con una distribución por edades que tiene 2 picos: uno entre los 10 y los 25 años, y otro por encima de 60⁽³⁾. Al menos desde un punto de vista teórico, la causa de la aplasia puede radicar en una lesión de la célula madre multipotencial o en un defecto del microambiente medular. La gran mayoría de los trabajos apuntan a un fallo en el propio compartimento hematopoyético, generalmente con un trasfondo fisiopatológico inmune⁽⁴⁻⁶⁾. Una reacción autoinmune con linfocitos T como células efectoras causa probablemente la depleción de células madre hematopoyéticas, pero se desconoce el mecanismo fisiopatológico preciso, así como los antígenos celulares implicados⁽⁷⁾. Más recientemente, se apunta la posibilidad de un trastorno clonal de fondo como responsable de la enfermedad, al menos en un porcentaje de pacientes, y que incluiría mutaciones somáticas en genes relacionados con neoplasias mieloides, sobre todo en *DNMT3A*, *ASXL1* y *BCOR/BCORL1*^(8,9). Algunos autores, finalmente, han demostrado alteraciones en el microambiente medular que pueden producir una hematopoyesis defectuosa, sin que se pueda elucidar por ahora si son causa o consecuencia de la enfermedad^(10,11).

La sospecha de aplasia medular comienza generalmente por un hemograma que muestra bicitopenia/pancitopenia y una cifra baja de reticulocitos. El diagnóstico diferencial debe establecerse con todas las enfermedades que produzcan citopenias y reticulocitopenia, sobre todo en ausencia de esplenomegalia (esta suele estar presente en procesos linfoproliferativos como la tricoleucemia y en caso de síndrome hemofagocítico). Así, debemos descartar, entre otras, las siguientes: leucemia aguda y SMD (especialmente las formas hipocelulares de ambos), neoplasias linfoides (tricoleucemia y leucemia de linfocitos grandes granulares T, entre otras), anemia megaloblástica, hemoglobinuria paroxística

nocturna, infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) en estadios avanzados, hiperesplenismo, hepatopatía crónica, sepsis, tuberculosis medular, enfermedades autoinmunes, enfermedades de depósito y situaciones en las que el parénquima medular es sustituido por un tejido fibrótico o por una metástasis de un cáncer no hematológico. Una macrocitosis marcada apuntará como más probable un origen megaloblástico y la existencia de un cuadro leucoeritroblástico en sangre hará más verosímil la posibilidad de una mielofibrosis o de una metástasis medular por un tumor sólido.

Por tanto, la aplasia medular requiere de un cuadro de citopenias asociado a una médula ósea marcadamente hipocelular, en ausencia de un infiltrado medular patológico y de mielofibrosis. La definición de aplasia medular fue publicada en 1987 por el *International Agranulocytosis and Aplastic Anaemia Study*⁽¹²⁾ y estableció que, junto a una hipoplasia medular significativa, se necesitaban al menos 2 de los siguientes: hemoglobina < 100 g/L, plaquetas < $50 \times 10^9/L$ y neutrófilos < $1,5 \times 10^9/L$.

La gravedad de la aplasia medular viene definida por criterios hematológicos precisos y durante mucho tiempo los más utilizados han sido los establecidos por Camitta *et al.*⁽¹³⁾ en los años setenta del pasado siglo. Estos criterios definen una aplasia medular como **grave** cuando se reúnen las siguientes condiciones:

- Una biopsia de médula ósea (BMO) que muestre menos del 25% de la celularidad normal o bien menos del 50% de la celularidad normal con menos del 30% hematopoyética.
- Al menos 2 de los siguientes 3 criterios relativos a la sangre periférica:
 - Recuento de plaquetas inferior a 20.000/ μL .
 - Recuento de neutrófilos inferior a 500/ μL .
 - Anemia con un recuento de reticulocitos corregidos inferior al 1%.

Posteriormente, se añadió el concepto de aplasia **muy grave** como aquella que, además de los criterios anteriores de gravedad, cursa con una cifra de neutrófilos inferior a 200/ μL ⁽¹⁴⁾. Por exclusión, una aplasia medular **no grave** es la que no reúne los criterios anteriores y, en particular, un recuento de neutrófilos superior a 500/ μL . Esta clasificación

en **no grave**, **grave** y **muy grave** tiene importantes implicaciones terapéuticas y pronósticas.

De lo anterior se deduce que, ante la sospecha de una aplasia medular, el aspirado de médula ósea no es la técnica diagnóstica de elección, al no aportar una idea global del grado de celularidad medular. Con todo, es conveniente reconocer que la observación del aspirado medular puede ayudar algo a realizar un primer diagnóstico diferencial: una muestra de aspirado “graso” puede obtenerse más fácilmente de un paciente con aplasia medular, mientras que un auténtico aspirado “blanco” es más propio de una médula ósea “empaquetada” (caso por ejemplo de una leucemia aguda o una leucemia linfocítica crónica avanzada) o “mielofibrótica” (pacientes con mielofibrosis idiopática o tricoleucemia, por poner dos circunstancias más frecuentes). Además, el aspirado medular es útil para realizar un estudio citogenético y un análisis de hibridación fluorescente *in situ* (FISH), para determinar si existen anomalías cromosómicas. Aunque es un tema no exento de debate, anomalías como una delección del cromosoma 7 claramente confieren mal pronóstico, mientras que otras alteraciones como +Y y +8 son más benignas y pueden no influir en la estrategia terapéutica del paciente⁽¹⁵⁾.

La indicación de BMO es absoluta cuando se sospeche aplasia medular e imprescindible para establecer el diagnóstico de aplasia medular grave, así como para establecer el diagnóstico diferencial con otras entidades (mielofibrosis, enfermedad granulomatosa, neoplasia, etc.). En caso de una cifra de plaquetas inferior a $20 \times 10^9/L$, se requiere de una transfusión de este producto hemoderivado antes de realizar la punción. Se debe intentar obtener un cilindro óseo de al menos 2 cm de longitud, que no sea tangencial y que pueda eludir una eventual confusión con la aplasia subcortical fisiológica propia de edades avanzadas. Es de destacar que el diagnóstico de aplasia medular adquirida debe establecerse lo antes posible, porque se ha demostrado que el tiempo transcurrido entre dicho diagnóstico y el inicio del tratamiento es un factor pronóstico muy importante desde un punto de vista de la supervivencia⁽¹⁶⁾.

Es de destacar que, según las series, hasta un 50% de los casos de aplasia medular adquirida presenta una clona HPN (de hemoglobinuria paroxística nocturna), es decir, de células deficientes en proteínas GPI (moléculas unidas a grupos glucosil fosfatidil inositol –MUGFI–), habitualmente sin evidencia de actividad hemolítica, y cuyo hallazgo no invalida el diagnóstico de aplasia medular.

2.2. Principales hallazgos histopatológicos

Se deben considerar 3 aspectos al evaluar una médula ósea aplásica: a) el grado de hipocelularidad; b) la diferenciación entre aplasia medular y SMD hipoplásico; y c) las alteraciones del estroma.

2.2.1. Grado de hipocelularidad

Para determinar el grado de celularidad medular existen procedimientos clásicos bastante precisos, que utilizan sistemas de cuadrículas aplicadas a la visión microscópica de una sección histológica tisular⁽¹⁷⁾. Sin embargo, es práctica más frecuente la evaluación del componente celular hematopoyético mediante semicuantificación óptica. Usando este método, nosotros

reconocemos 3 grados de hipocelularidad (I, II y III) (**Figuras 1 a 3**), lo que se habrá de hacer siempre tomando en consideración la edad del paciente. Este método semicuantitativo no ofrece mayor dificultad para diagnosticar la mayor parte de los casos de aplasia medular grave (grado III), en la que el contenido medular hematopoyético en la muestra de biopsia se aproximará a cero. En la actualidad, debe desterrarse la expresión descriptiva “médula hipoplásica” sin más e incluirse un porcentaje de celularidad (ajustado a la edad), tal y como lo requieren los criterios diagnósticos de la propia enfermedad.

En la mayoría de los pacientes con aplasia medular, la presencia de celularidad hematopoyética es extremadamente escasa, pero existen algunos casos que conservan pequeñas áreas de hematopoyesis residual (lo que los autores anglosajones denominan *hot pockets* o *hot spots*) (**Figura 4**), constituidos sobre todo por precursores eritroides, y que confieren ventajas en el pronóstico⁽¹⁸⁾.

En cuanto a la grasa medular, se ha demostrado que el aumento del componente graso en la aplasia medular se debe tanto a un aumento del tamaño de los adipocitos como de su número⁽¹⁹⁾. Pero esta circunstancia varía de nuevo con la edad de los pacientes: así, en los enfermos más jóvenes aumenta sobre todo el número de adipocitos, mientras que

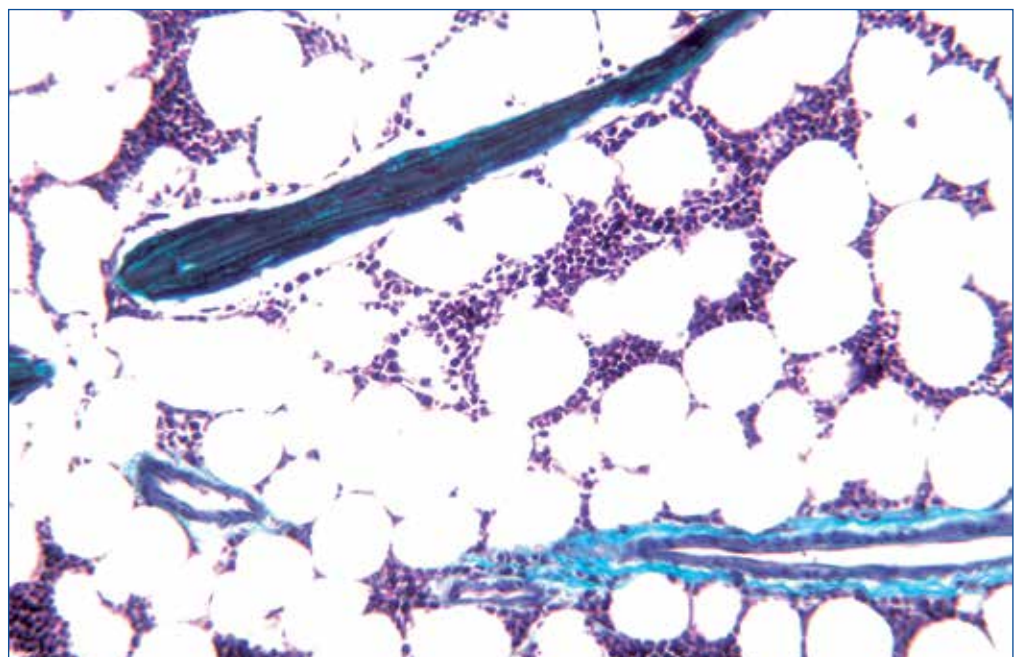


Figura 1. Aplasia medular global de grado I (Tricrómico de Masson $\times 250$).

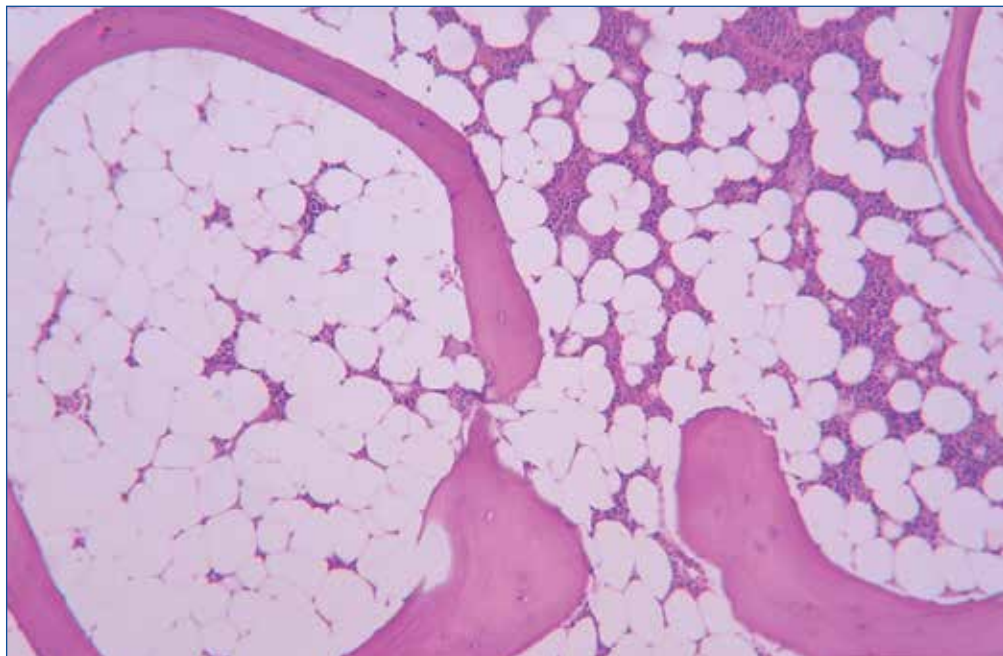


Figura 2. Aplasia medular global de grado II (PAS $\times 100$).

los de edad avanzada muestran más un aumento de su tamaño⁽²⁰⁾.

Como también ocurre en el aspirado medular, además de la disminución de la celularidad global y el consiguiente incremento del componente graso, a pequeño aumento destacará (por ser células muy fácilmente reconocibles y relativamente escasas) la disminución e incluso la ausencia de los megacario-

citosis. En las formas con mayor grado de hipocelularidad, al desaparecer la hematopoyesis, se hacen visibles las células no hematopoyéticas, que como se verá más tarde pueden hallarse aumentadas, así como células del estroma medular (así, por ejemplo, las células reticulares, situadas en los entrecruzamientos de las fibras del armazón, células que en una médula celular son muy difíciles de apreciar al

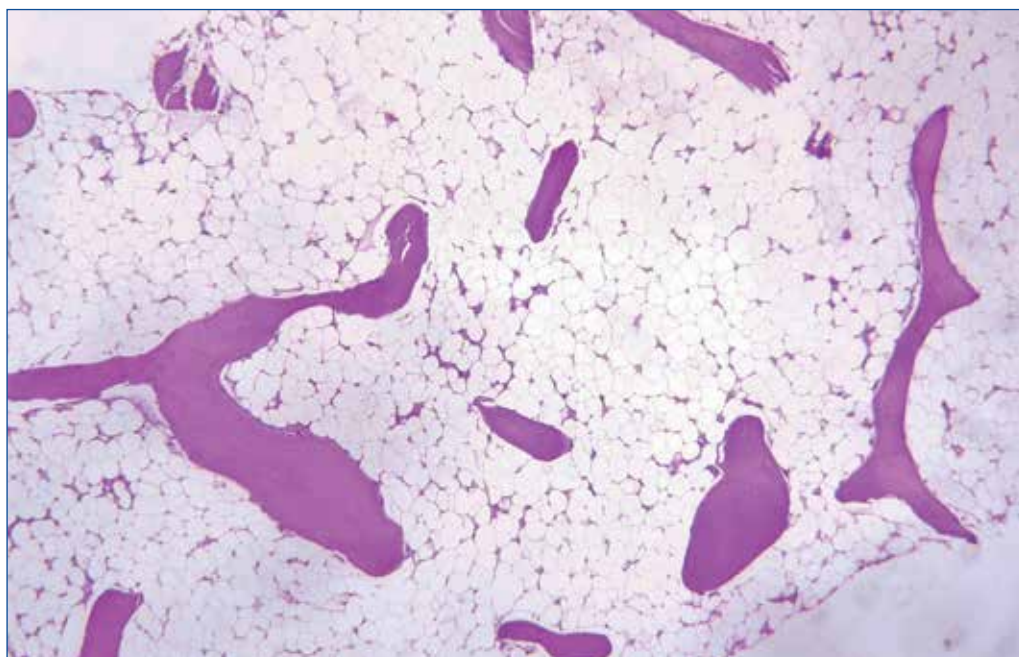


Figura 3. Aplasia medular global de grado III (PAS $\times 50$).

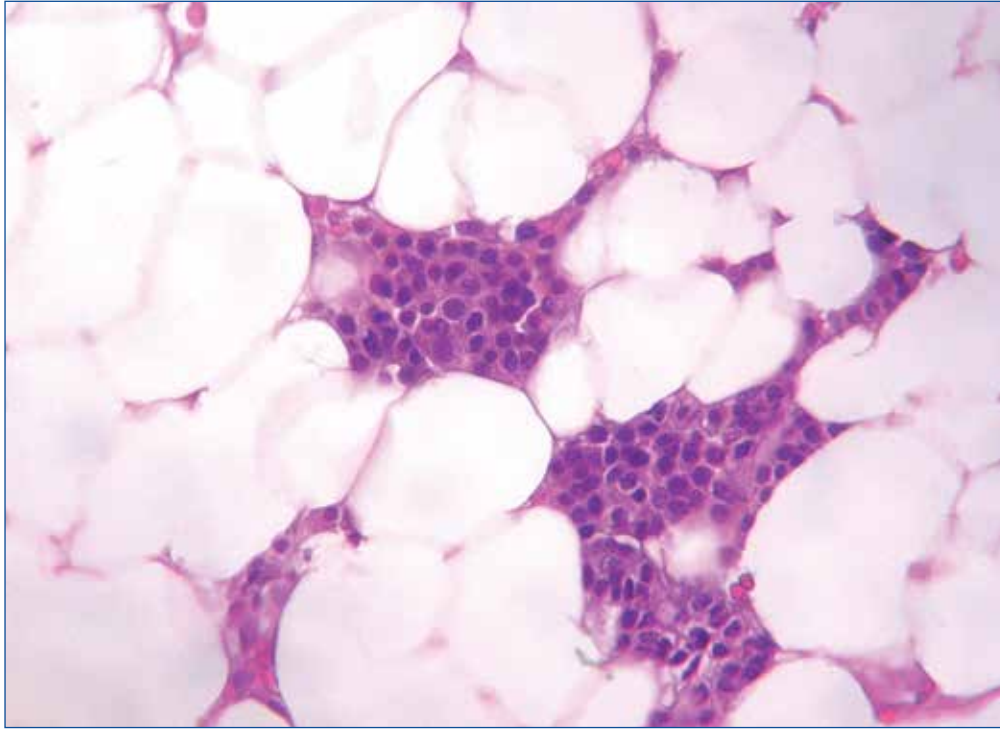


Figura 4. Los “bolsillos calientes” o *hot pockets* constituyen pequeñas áreas de hematopoyesis residual (sobre todo eritroides), cuya presencia implica mejor pronóstico (HE \times 400).

estar ocultas por la gran cantidad de células hematopoyéticas).

Debemos remitir aquí al lector a lo ya reseñado en el capítulo dedicado a la biopsia medular normal, es decir, a la existencia de formas peculiares

de atrofia parenquimatosa (por ejemplo, la aplasia medular heterogénea o en “damero” y la atrofia peritrabecular) (Figura 5) que nada tienen que ver con la verdadera aplasia medular, entendida como tal enfermedad.



Figura 5. Médula ósea con aplasia heterogénea o “en damero”, alternando zonas con mayor presencia de células hematopoyéticas y otras donde abunda el componente graso (HE \times 50).

2.2.2. Diferenciación entre aplasia medular y síndrome mielodisplásico hipoplásico

La diferenciación entre una aplasia medular y un SMD hipocelular (SMDh) resulta complicada en algunas ocasiones y, aunque algunos autores mantienen que se puede tratar de entidades con un trasfondo fisiopatológico común⁽²¹⁾, en la actualidad todavía es evidente la importancia terapéutica de obtener un diagnóstico preciso. Clásicamente, se dice que el análisis citogenético muestra generalmente normalidad en pacientes con aplasia, mientras que es frecuentemente patológico en los enfermos con mielodisplasia. Pero lo cierto es que en muchos pacientes en los que se sospecha un SMDh no es posible obtener material medular suficiente para llevar a cabo dicho estudio citogenético con garantías. Dejando a un lado algunos intentos peregrinos de utilizar la resonancia magnética como herramienta que sirva para separar aplasia medular de mielodisplasia⁽²²⁾, la BMO sí puede aportar información valiosa que ayude en este diagnóstico diferencial.

Las alteraciones displásicas celulares no siempre son evidentes en una biopsia medular de un SMDh y,

por otra parte, en la aplasia medular pueden observarse ciertos signos dismórficos, sobre todo rasgos de maduración megaloblastoide que pueden llegar a ser llamativos en precursores de serie roja, pero no así la presencia de displasia en serie mieloide ni megacariocítica⁽²³⁾. Un dato histopatológico que puede ayudar a diferenciar estas dos enfermedades es la mayor o menor presencia de megacariocitos en los cortes de biopsia: un descenso muy marcado o la ausencia de megacariocitos, incluso en las zonas de hematopoyesis residual más conservada, parece constituir la característica principal que diferencia la aplasia medular del SMDh, pues en este último el número de megacariocitos por área es normal o está aumentado en la mayoría de los casos⁽²⁴⁾. Por otra parte, los megacariocitos de núcleo monolobulado o hipoploide son muy característicos de los SMD en general, así como los micromegacariocitos. Aunque se trate de un dato indirecto o complementario, el contenido medular de mastocitos, menor en los pacientes con SMDh, también podría ser de utilidad⁽²⁵⁾. La localización anormal de precursores inmaduros (LAPI) y el incremento de fibras en las áreas de hematopoyesis conservada

apoyan más el diagnóstico de SMDh que el de aplasia medular; en esta última no existe aumento de fibras de reticulina ni se suelen ver precursores inmaduros⁽²⁶⁾.

En 2009 se publicó, por parte de un grupo de expertos del French-American-British Cooperative Leukemia Working Group, un conjunto de recomendaciones morfológicas que, convertidas en criterios diagnósticos, servirían para diferenciar la leucemia aguda mieloide y los SMDh de la aplasia medular⁽²⁷⁾, cuya lectura recomendamos. La **Tabla 2** recoge las diferencias fundamentales entre la aplasia medular y los SMDh, tomada de Rovó *et al.*⁽²⁸⁾.

Tabla 2. Diferencias principales entre aplasia medular y síndrome mielodisplásico hipocelular (SMDh)

	Aplasia medular	SMD hipoplásico
Citopenias	Presentes	Presentes
Celularidad medular	Aplasia (< 10%) o hipocelular	Hipocelular
Hematopoyesis:		
Eritroide	Presente en nidos (<i>hot spots</i>)	Presente
Mieloide	Típicamente disminuida	Presente
Megacariocítica	Disminuida o ausente	Presente
Displasia:		
Eritroide	Posible	Posible
Mieloide	Morfología normal	Posible
Megacariocítica	Morfología normal	Posible
Blastos	Ausentes	Variable
CD34+ o CD117+ (IHQ)	Prácticamente ausentes	Normal o aumentados
Fibrosis medular	Ausente	Posible
Cariotipo	Alteraciones clonales posibles (± 12%)	-7/del 7q; -5/del 5q; otros
Clona HPN	Frecuente	Infrecuente
Esplenomegalia al diagnóstico	Ausente	Posible

HPN: hemoglobinuria paroxística nocturna; IHQ: inmunohistoquímica

Tomado de Rovó *et al.*⁽²⁸⁾

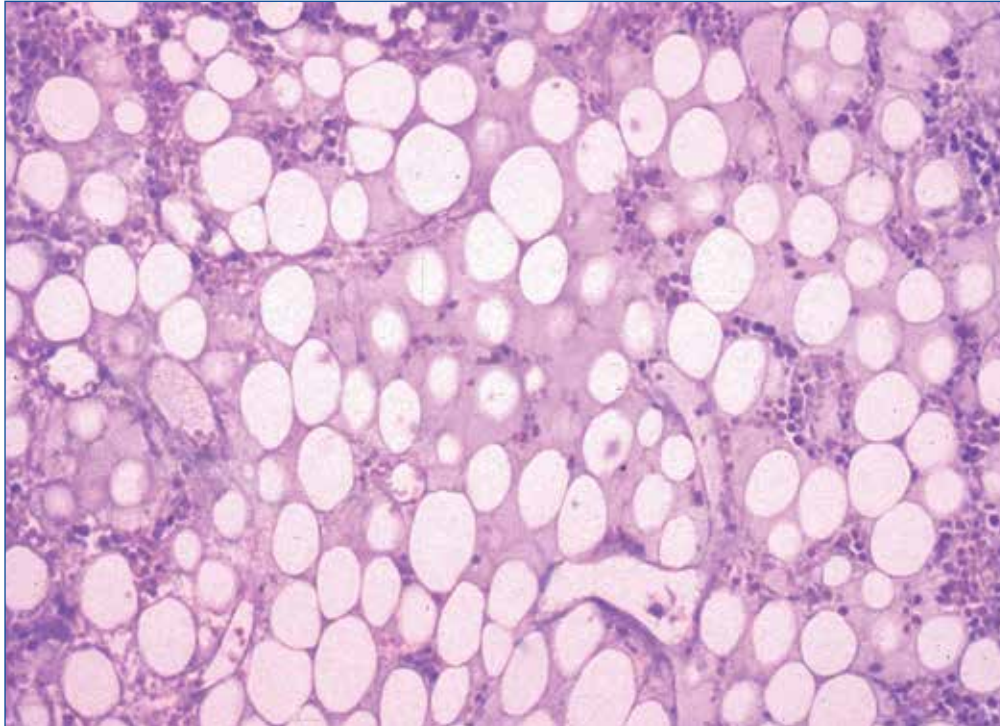


Figura 6. Presencia importante de edema en el intersticio entre las células grasas (PAS × 250).

Existen trabajos que demuestran la utilidad de un análisis antigénico de las células hematopoyéticas realizado mediante citometría de flujo, para diferenciar ambas entidades⁽²⁹⁾; sin embargo, esta aproximación diagnóstica puede resultar compleja. Por otra parte, parece demostrada una disminución marcada de progenitores medulares CD34+ en los pacientes con aplasia medular grave⁽³⁰⁾. La simple determinación de la mayor o menor presencia de células CD34+ en la BMO, llevada a cabo mediante técnicas inmunohistoquímicas, puede ayudar a diferenciar la aplasia medular de los SMDh^(31,32). Así, todos los pacientes con una proporción considerada normal o aumentada de células CD34+ se diagnosticaron finalmente de SMD bien fuera por la coexistencia de alteraciones citogenéticas clonales o la progresión posterior a anemia refractaria con exceso de blastos o a leucemia aguda, mientras que aquellos con una baja presencia de células CD34+ cumplieron los criterios diagnósticos estándar de aplasia medular y no demostraron en su evolución una tendencia a la transformación neoplásica. Si a la determinación de CD34 por inmunohistoquímica añadimos la de p53, podemos ganar en rentabilidad diagnóstica⁽³³⁾.

2.2.3. Alteraciones del estroma

Desde hace tiempo se reconocen diversas alteraciones del estroma medular (algunas de ellas interpretadas en el contexto de la actividad autoinmune asociada a la propia aplasia medular) no solo funcionales⁽³⁴⁾, sino también morfológicas. Entre estas últimas destacan las siguientes:

- **Edema:** consistente en la aparición en el intersticio de un material anhisto eosinófilo, de tonalidad rosada en la tinción de hematoxilina-eosina (**Figuras 6 y 7**).
- **Hemorragia intersticial:** como su nombre indica, se trata de valorar la mayor o menor presencia de hematíes en el intersticio medular (**Figura 8**). Esta alteración no debe confundirse con la falsa impresión de extravasación sanguínea que puede producir una situación congestiva vascular, para lo cual debemos corroborar que los hematíes no están limitados a espacios sinusoidales, a veces difíciles de delimitar.
- **Desestructuración del armazón reticulínico:** las fibras reticulínicas pueden aparecer distorsionadas, “deshilachadas”, aspecto que hemos comparado al de una “escoba vieja” (**Figura 9**).

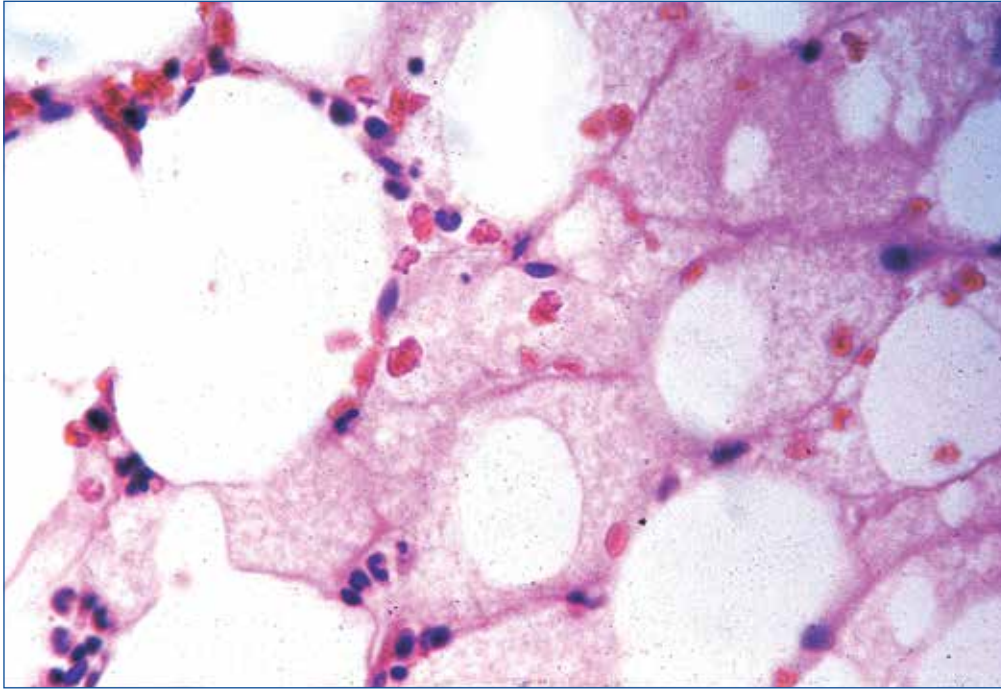


Figura 7. Zonas de edema a mayor detalle, con presencia de un material anhisto eosinófilo característico (HE $\times 400$).

- **Infiltrado linfoplasmocitario o inflamatorio:** presencia de linfocitos y células plasmáticas, descritos por primera vez por Te Velde y Haak⁽³⁵⁾, quienes describen 3 grados (I-III) según su tamaño y distribución, y les otorgan significado pronóstico tanto peor cuanto más intenso, el cual correspon-

dería al grado III (**Figuras 10 a 12**). Es de notar que, en casos de un infiltrado de grado III, a pequeño aumento y en una valoración apresurada, se puede tener la impresión de que la celularidad no está tan disminuida, al confundir las células inmunes con restos de celularidad hematopoyética.

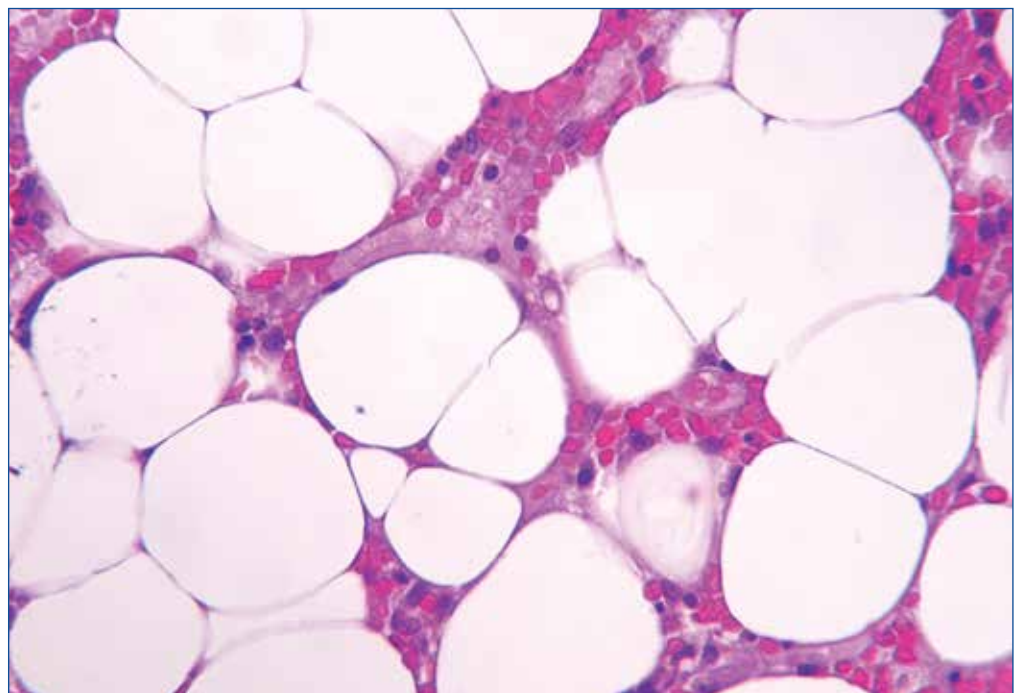


Figura 8. Hemorragia intersticial (HE $\times 400$).

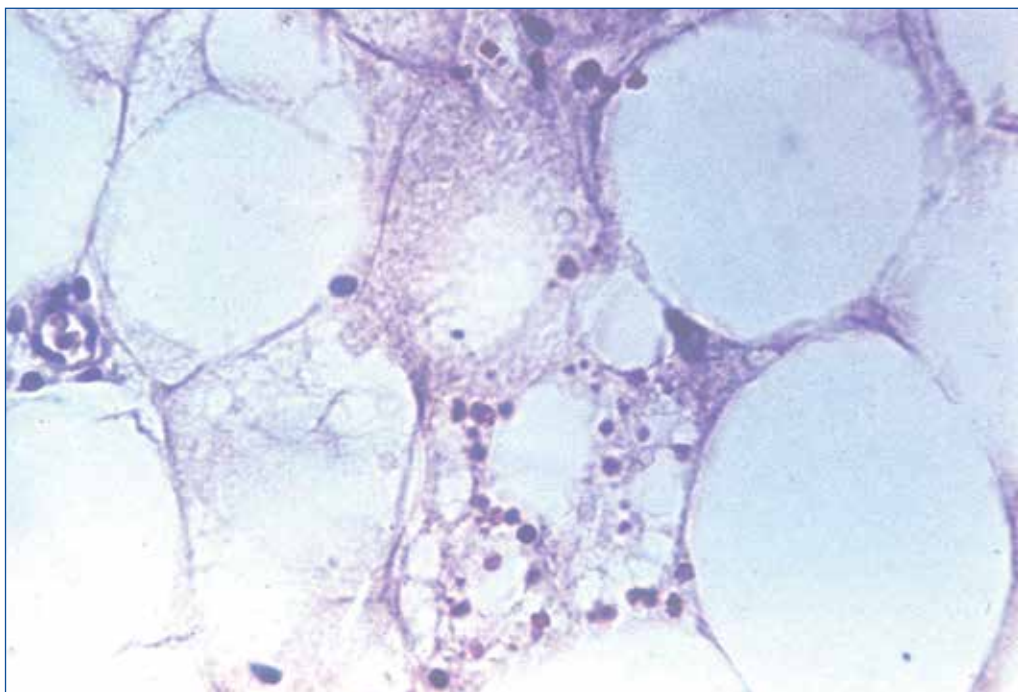


Figura 9. Apariencia “deshilachada” de las fibras reticulínicas (Reticulina $\times 400$).

• **Angiogénesis:** aunque existen muy pocos estudios que investiguen la microvasculatura, parece ser que la aplasia medular se asocia con un descenso significativo en la densidad de pequeños vasos y en la actividad angiogénica medular, cuando se

compara con sujetos sanos⁽³⁶⁾. Este defecto en la angiogénesis podría tener importancia fisiopatológica en la enfermedad.

• **Hemosiderosis:** se suele apreciar un aumento de los depósitos de hierro en el interior de los histiocitos

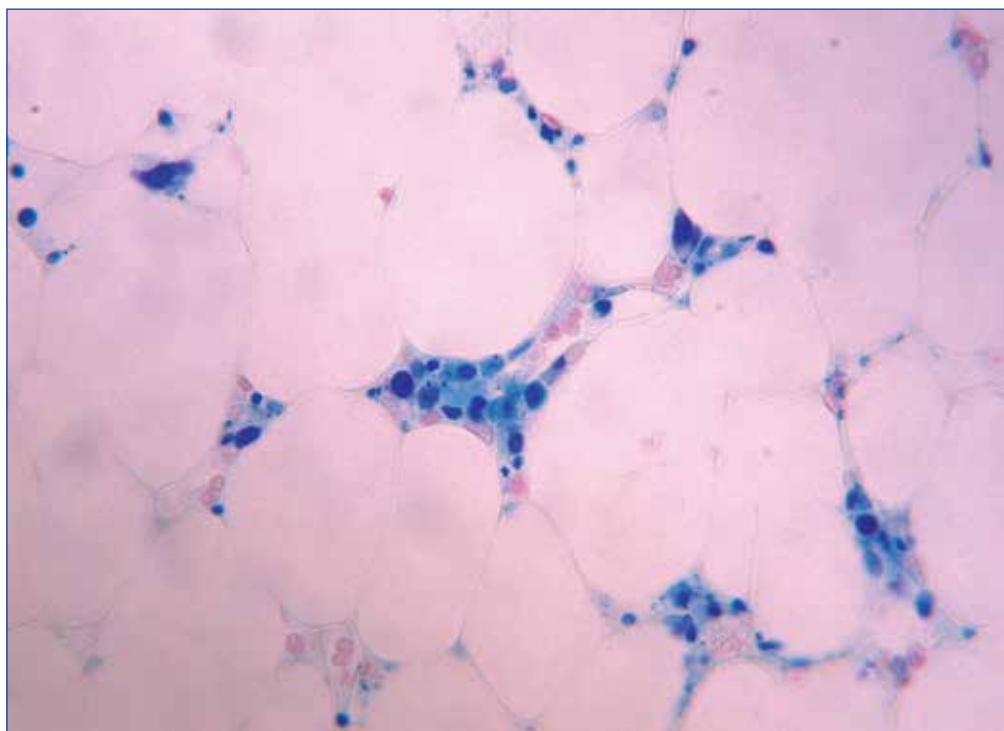


Figura 10. Infiltrado linfoplasmocitario de grado I de Te Velde (Giemsa $\times 400$).

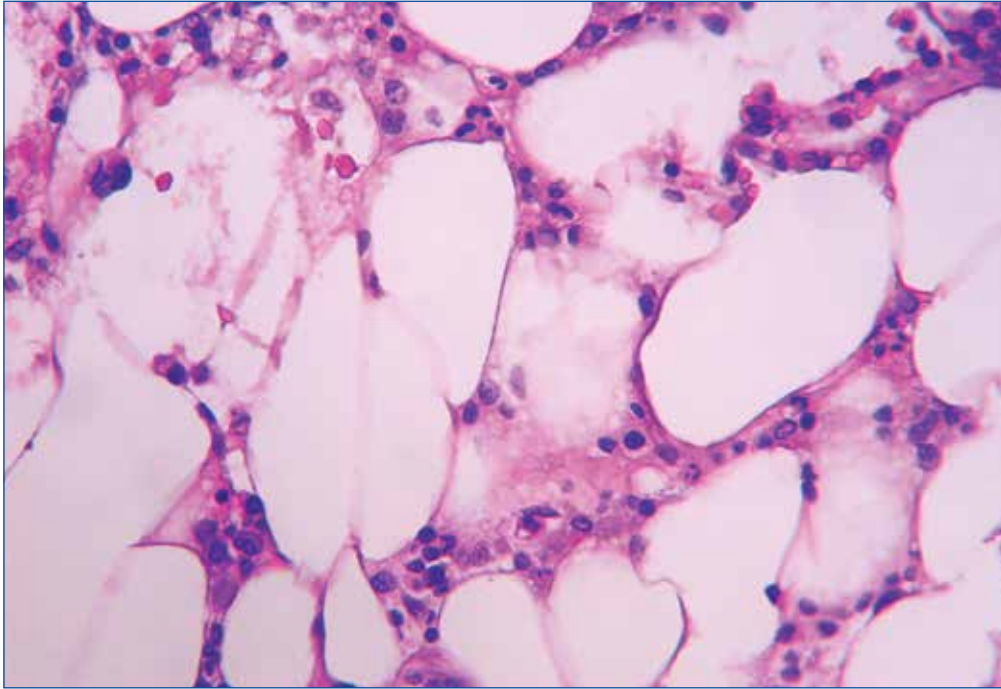


Figura 11. Infiltrado linfoplasmocitario de grado II de Te Velde (HE \times 400).

medulares, los cuales están disminuidos en cantidad⁽³⁷⁾ (**Figura 13**). No se observan sideroblastos en anillo en la aplasia medular⁽²³⁾ que, aunque su presencia debe ser indiscutiblemente valorada en el aspirado medular, excepcionalmente pueden verse incluso en buenas tinciones de Perls practicadas sobre cortes histológicos.

2.3. Implicaciones pronósticas

Los recuentos automatizados de células sanguíneas resultan sin duda más precisos que una aproximación microscópica al recuento diferencial de las distintas células presentes en médula ósea

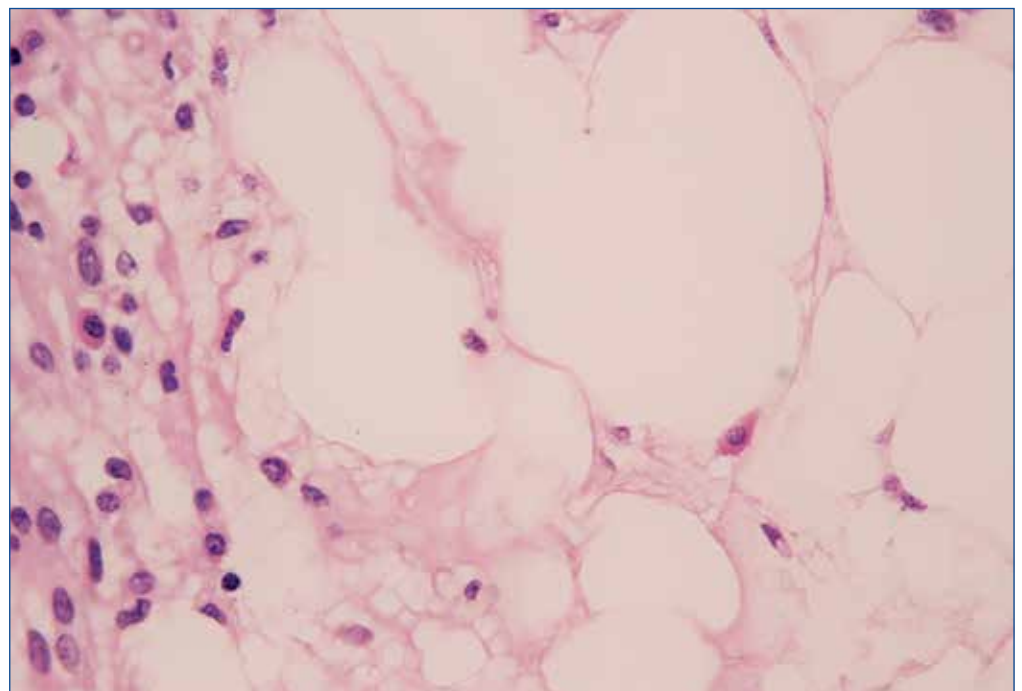


Figura 12. Infiltrado linfoplasmocitario de grado III de Te Velde (Giemsa \times 1.000).

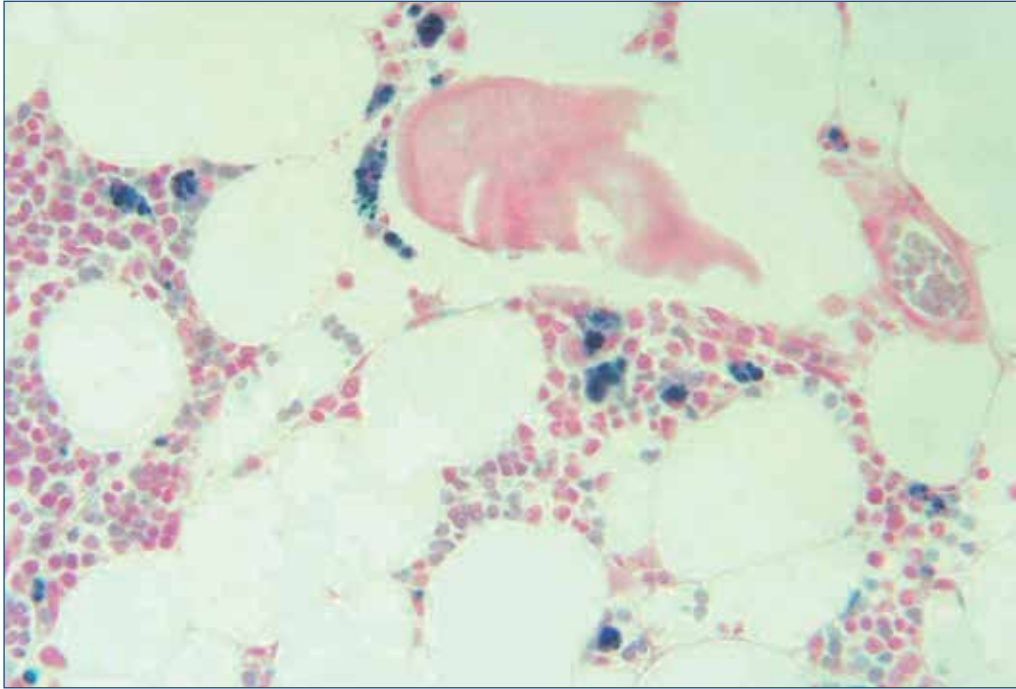


Figura 13. Aumento de los depósitos de hierro macrofágico (Perls $\times 400$).

(sobre todo cuando este no se realiza a través de un aspirado medular sino de un corte histológico de biopsia, como ocurre en el caso de la aplasia medular) y en las pancitopenias en general las cifras periféricas se correlacionan más claramente con la supervivencia que la celularidad medular. Sin embargo, se ha descrito que la celularidad observada en la biopsia medular podría tener importancia pronóstica. Así, se ha otorgado trascendencia pronóstica a la mayor o menor presencia de linfocitos en la biopsia medular, existiendo una relación inversa entre la proporción de estos y la supervivencia de los pacientes^(35,38); sin embargo, este dato no es corroborado por otros estudios y el infiltrado inflamatorio no se correlacionó en ellos ni con la supervivencia ni con la respuesta a la globulina antitimocítica (ATG)^(39,40). La presencia de residuos hematopoyéticos (*hot pockets*) se ha relacionado también con un mejor pronóstico⁽³⁸⁾. Un índice ideado por Rozman *et al.*, que incluye conjuntamente el grado de aplasia (I-III) junto a la presencia de alteraciones del estroma como son el edema, el infiltrado linfoplasmocítico y la hemorragia intersticial, añade significación estadística en el pronóstico a los criterios hematológicos convencionales de aplasia grave⁽⁴¹⁾.

3. Aplasia pura de serie roja

La aplasia pura adquirida de serie roja es una entidad infrecuente consistente en anemia y reticulocitopenia graves, y una disminución muy marcada ($< 5\%$, pero a veces incluso ausencia) de precursores de serie roja en médula ósea, estando conservadas y siendo morfológicamente normales las restantes series hematopoyéticas. Aunque generalmente idiopática, los factores etiológicos reconocidos incluyen virus (por ejemplo, parvovirus B19, virus de hepatitis), fármacos (por ejemplo, fenitoína, cloranfenicol e incluso eritropoyetina), procesos autoinmunes sistémicos, neoplasias linfoides (especialmente leucemia de linfocitos grandes granulares) o mieloides, tumores sólidos (sobre todo timoma) y embarazo^(42,43). La forma congénita de esta entidad se denomina síndrome de Diamond-Blackfan y suele asociarse a otras anomalías congénitas⁽⁴⁴⁾. El procedimiento diagnóstico de elección es el aspirado de médula ósea, pero las técnicas inmunohistoquímicas en cortes de biopsia pueden aportar alguna información en estos casos, como por ejemplo la posibilidad de poner de manifiesto la presencia de un infiltrado linfoide difuso, más frecuentemente compatible con una leucemia de linfocitos grandes granulares CD3+

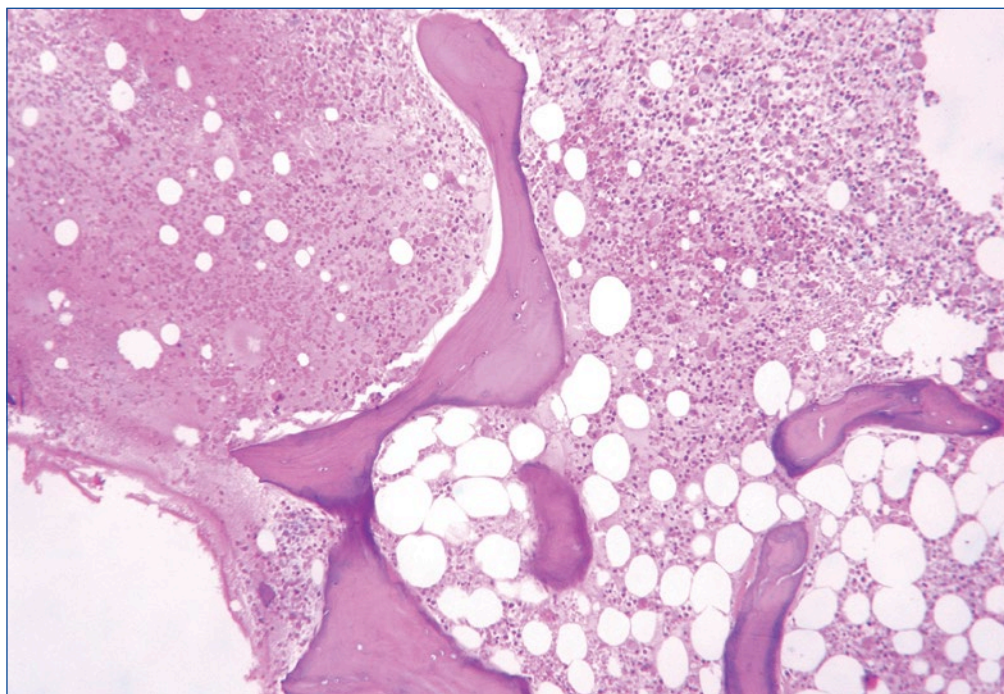


Figura 14. Diferenciación de dos zonas a ambos lados de la trabécula ósea: a su izquierda, material de necrosis y, a su derecha, zona de hematopoyesis conservada (HE \times 250).

CD8+ o de cualquier otro tipo de enfermedad subyacente que pueda afectar la médula ósea^(45,46).

4. Agranulocitosis

La agranulocitosis inmunoalérgica, aunque considerada una neutropenia de naturaleza principalmente periférica, tiene un componente central, pues la agresión inmune también afecta a los precursores granulocíticos de médula ósea. El aspirado medular es la técnica diagnóstica de elección. Con todo, si se hiciera BMO, es posible observar médulas discretamente hipocelulares, con disminución de las células granulocíticas que muestran paro madurativo (predominio de “núcleos redondos” sobre los característicos de cayados o segmentados). Otras veces aparecen áreas de necrosis, a menudo perivasculares (véase más abajo). Además, es posible observar infiltrados linfoplasmocitarios o nódulos linfoides reactivos. Se observa también desestructuración del estroma. En su caso, podrán verse las correspondientes lesiones de carácter infeccioso oportunistas ante la neutropenia. Hemos visto un caso complicado con una verdadera osteomielitis, de este origen⁽⁴⁷⁾.

5. Necrosis medular

Puede presentarse necrosis del parénquima medular en cuadros infecciosos (situaciones agudas de sepsis, endocarditis, fiebre Q, tuberculosis diseminada), en neoplasias hematopoyéticas con muy elevada capacidad proliferativa (por ejemplo, leucemia linfoblástica aguda, linfoma de Burkitt o linfoma de células grandes B), secundariamente a procesos que cursen con oclusión vascular (trombosis, drepanocitosis, síndrome antifosfolípido), ingesta de algunas plantas de herbolario con intenciones terapéuticas (por ejemplo, *Hypericum perforatum*), etc.⁽⁴⁸⁻⁵²⁾. El fenómeno puede acompañarse de dolor óseo o no, pancitopenia y, en muchos casos, fiebre. Para este tipo de complicación hematológica, la biopsia medular es netamente preferible al aspirado y la lesión anatomopatológica consiste básicamente en una desestructuración celular, apareciendo “sombras” o “fantasmas” celulares en una porción generalmente limitada de la médula, aunque ocasionalmente puede afectar a toda la extensión del cilindro medular (**Figuras 14 y 15**). Una gammagrafía ósea puede proporcionar una idea del grado de extensión de la necrosis medular y, aunque por desgracia se diagnostica más frecuente-

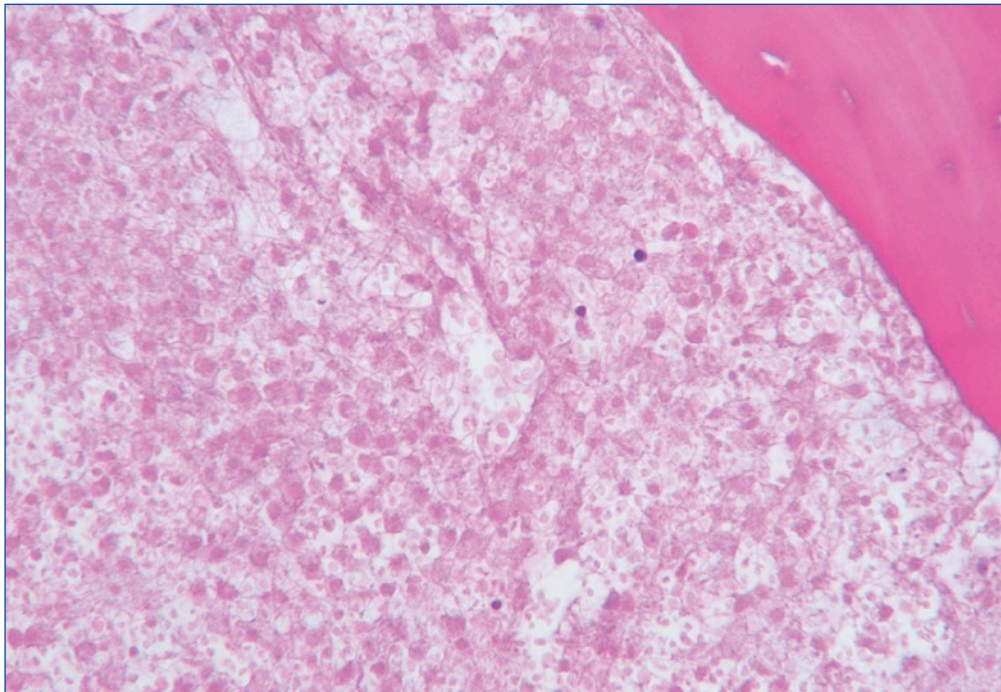


Figura 15. Sustitución de la hematopoyesis habitual en un área significativa del cilindro medular por un material de necrosis (HE \times 100).

mente en las autopsias, el tratamiento de la enfermedad subyacente causante de la necrosis puede revertir este cuadro⁽⁵³⁾.

6. Degeneración gelatinosa de la médula ósea

Esta rara eventualidad, de patogenia desconocida, se da de forma predominante en sujetos adultos y generalmente en adultos jóvenes (aunque existen descritos casos pediátricos), más frecuentemente en varones en una proporción 2:1. La serie más amplia se debe a Böhm *et al.*, que incluye 155 casos⁽⁵⁴⁾. Podríamos decir que se trata de un “síntoma” de la médula ósea y no de una enfermedad en sí misma, pues se asocia con un espectro de enfermedades subyacentes heterogéneo, que algún estudio ha intentado relacionar con la edad del paciente: anorexia nerviosa, sida y estados febriles agudos en menores de 40 años; alcoholismo y linfomas en edades intermedias; y carcinomas, linfomas e insuficiencia cardíaca crónica en mayores de 60 años⁽⁵⁴⁻⁵⁶⁾. Además, se ha descrito de forma secundaria a tratamiento quimioterápico o imatinib, asociada a hipotiroidismo grave⁽⁵⁷⁾ y en otras situaciones diversas, pero más

frecuentemente en situaciones de desnutrición proteica avanzada, tratamientos dietéticos muy estrictos⁽⁵⁸⁾ y síndromes malabsortivos prolongados. De hecho, las lesiones medulares características se han logrado reproducir experimentalmente en animales con desnutrición provocada y en ellos se ha observado, además, la posibilidad de revertir el proceso una vez se normaliza la precaria situación nutricional. Debe destacarse que, aunque es una entidad que conlleva mal pronóstico, como ocurre en el caso de la necrosis medular, la degeneración gelatinosa de la médula puede revertir a veces con el tratamiento de la enfermedad que la condiciona.

La lesión característica y llamativa no presenta residuos celulares necróticos, sino que consiste por un lado en aplasia y por otro en la presencia de un material anhisto, PAS positivo, que rellena toda la extensión vacía del intersticio donde antes estaba la celularidad (**Figuras 16 y 17**), ahora solo representada por escasas células linfoides, macrófagos que contienen en su citoplasma detritos y material de citolisis, o hematíes. La mencionada sustancia corresponde a mucopolisacáridos, ricos en ácido hialurónico⁽⁵⁴⁾.

En el caso de la anorexia nerviosa, mediante análisis morfológico y estudios morfométricos

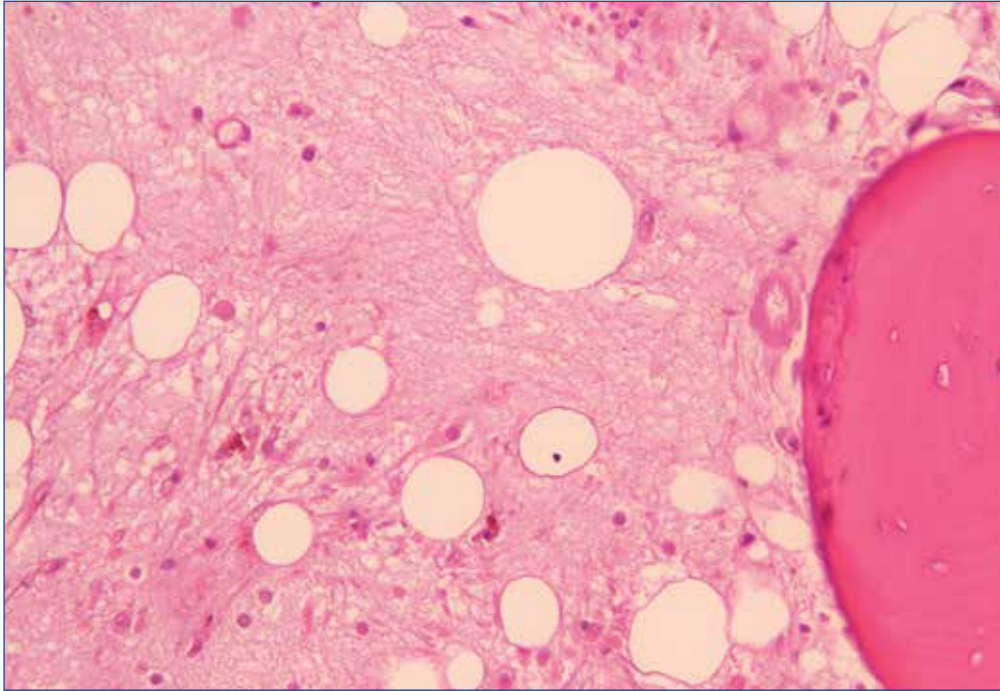


Figura 16. Médula ósea aplásica con fenómeno de degeneración gelatinosa (HE $\times 250$).

medulares, se ha podido demostrar una correlación entre la cantidad de peso perdido y la presencia de uno de los siguientes patrones medulares: normalidad, aplasia o hipoplasia, degeneración gelatinosa focal o degeneración gelatinosa global⁽⁵⁹⁾.

7. Consideraciones prácticas finales

La BMO constituye el procedimiento diagnóstico de elección ante la sospecha de una aplasia medular o complicaciones medulares asociadas a enfermedades graves, como son la necrosis y la degeneración

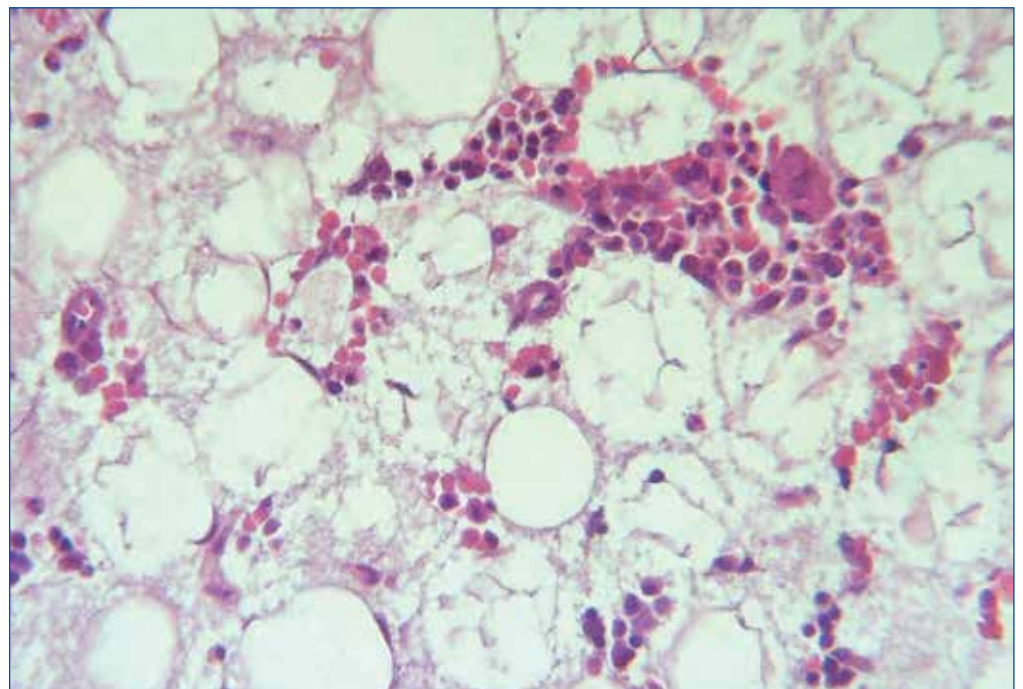


Figura 17. Material anhisto PAS positivo que ocupa los espacios intersticiales, en un caso de degeneración gelatinosa de la médula (PAS $\times 400$).

gelatinosa medulares. No es imprescindible su realización en la mayoría de los casos de aplasia pura de serie roja o agranulocitosis. En pacientes con aplasia medular, la BMO ayudará a establecer el grado de celularidad medular y por tanto la gravedad del cuadro, a la vez que las alteraciones del estroma que son características y, además, todo ello puede tener importancia pronóstica. Asimismo, ciertos aspectos morfológicos e inmunohistoquímicos pueden resultar útiles para realizar el diagnóstico diferencial entre aplasia medular y SMDh, entidad esta última con la que se puede confundir más fácilmente, cuyos tratamientos difieren sustancialmente.

8. Bibliografía

1. Woessner S, Florensa L. Insuficiencias medulares cuantitativas globales o parciales: aplasia medular, eritroblastopenia, amegacariocitosis, agranulocitosis, neutropenia. Hematopoyesis cíclica. En: La citología óptica en el diagnóstico hematológico. Cuarta edición. Madrid: Acción Médica y FEHH; 2000. pp. 207-29.
2. Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS. Miscellaneous disorders. En: Bain BJ, Clark DM, Wilkins BS (eds.). Bone marrow pathology. 4th ed. Oxford: Wiley-Blackwell; 2010. pp. 500-48.
3. Killick SB, Bown N, Cavenagh J, Dokal I, Fokaneli T, Hill A, et al. Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. Br J Haematol. 2016;172:187-207.
4. Young NS, Calado RT, Scheinberg P. Current concepts in the pathophysiology and treatment of aplastic anemia. Blood. 2006;108:2509-19.
5. Guinan EC. Clinical aspects of aplastic anemia. Hematol Oncol Clin North Am. 1997;11:1025-44.
6. Maciejewski JP, Risitano A, Kook H, Zeng W, Chen G, Young NS. Immune pathophysiology of aplastic anemia. Int J Hematol. 2002;76(Suppl. 1):207-14.
7. Keohane FM. Acquired aplastic anemia. Clin Lab Sci. 2004;17:165-71.
8. Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. Blood. 2017;129(11):1428-36.
9. Stanley N, Olson TS, Babushok DV. Recent advances in understanding clonal haematopoiesis in aplastic anaemia. Br J Haematol. 2017;177(4):509-25.
10. Park M, Park CJ, Cho YW, Jang S, Lee JH, Lee JH, et al. Alterations in the bone marrow microenvironment may elicit defective hematopoiesis: a comparison of aplastic anemia, chronic myeloid leukemia, and normal bone marrow. Experimental Hematology. 2017;45:56-63.
11. Park M, Park CJ, Jang S, Kim DY, Lee JH, Lee JH, et al. Reduced expression of osteonectin and increased natural killer cells may contribute to the pathophysiology of aplastic anemia. Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2015;23:139-45.
12. International Agranulocytosis and Aplastic Anaemia Study. Incidence of aplastic anaemia: relevance of diagnosis criteria. Blood. 1987;70:1718-21.
13. Camitta BM, Rapoport JM, Parkman R, Nathan DG. Selection of patients for bone marrow transplantation in severe aplastic anemia. Blood. 1975;45:355-63.
14. Bacigalupo A, Hows JM, Gluckman E, Nissen C, Marsh J, Van Lint MT, et al. Bone marrow transplantation (BMT) versus immunosuppression for the treatment of severe aplastic anaemia (SAA): a report of the EBMT SAA Working Party. Br J Haematol. 1988;70:177-82.
15. Maciejewski JP, Risitano A, Sloand EM, Nunez O, Young NS. Distinct clinical outcomes for cytogenetic abnormalities evolving from aplastic anemia. Blood. 2002;99:3129-35.
16. Locasciulli A, Oneto R, Bacigalupo A, Socié G, Korthof E, Bekassy A, et al.; Severe Aplastic Anemia Working Party of the European Blood and Marrow Transplant Group. Outcome of patients with acquired aplastic anemia given first line bone marrow transplantation or immunosuppressive treatment in the last decade: a report from the European Group for Blood and Marrow Transplantation (EBMT). Haematologica. 2007;92:11-8.
17. Chalkley HW. Method for the quantitative morphologic analysis of tissues. J Natl Cancer Inst. 1943;4:47-53.
18. Kansu E, Erslev AJ. Aplastic anaemia with "hot pockets". Scand J Haematol. 1976;17:326-34.
19. Rozman C, Reverter JC, Feliú E, Berga L, Rozman M, Climent C. Variations of fat tissue fraction in abnormal human bone marrow depend both on size and number of adipocytes: a stereologic study. Blood. 1990;76:892-5.
20. Rozman C, Feliú E, Rozman M, Reverter JC, Climent C, Berga L. Aplasia medular adquirida: análisis estereológico del tejido adiposo de la médula ósea y sus correlaciones clínicas. Med Clin (Barc). 1993;101:441-5.
21. Barrett J, Sauntharajah Y, Mollidrem J. Myelodysplastic syndrome and aplastic anemia: distinct entities or diseases linked by a common pathophysiology? Semin Hematol. 2000;37:15-29.

22. Negendank W, Weissman D, Bey TM, de Planque MM, Karanes C, Smith MR, et al. Evidence for clonal disease by magnetic resonance imaging in patients with hypoplastic marrow disorders. *Blood*. 1991;78:2872-9.
23. Marsh JC, Ball SE, Cavenagh J, Darbyshire P, Dokal I, Gordon-Smith EC, et al. Guidelines for the diagnosis and management of aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2009;147:43-70.
24. Sakuma T, Hayashi Y, Kanomata N, Muruyama T, Matsui T, Kajimoto K, et al. Histological and cytogenetic characterization of bone marrow in relation to prognosis and diagnosis of myelodysplastic syndromes. *Pathol Int*. 2006;54:191-9.
25. Bessho F, Imashuku S, Hibi S, Tsuchida M, Nakahata T, Miyazaki S, et al. Serial morphologic observation of bone marrow in aplastic anemia in children. *Int J Hematol*. 2005;81:400-4.
26. Gandhi S, Abuarqoub H, Kordasti S, Jiang J, Kulasekararaj A, Mufti G, et al. Pathology of bone marrow failure syndromes. *Diagnostic Hystopathology*. 2015;21:174-80.
27. Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica*. 2009;94:264-8.
28. Rovó A, Tichelli A, Dufour C; SAA-WP EBMT. Diagnosis of acquired aplastic anaemia. *Bone Marrow Transpl*. 2013;48:162-7.
29. Ottawa M, Kawanishi Y, Iwase O, Shoji N, Miyazawa K, Ohyashiki K. Comparative multi-color flow cytometric analysis of cell surface antigens in bone marrow hematopoietic progenitors between refractory anemia and aplastic anemia. *Leuk Res*. 2000;24:359-66.
30. Maciejewsky JP, Selleri C, Sato T, Anderson S, Young NS. A severe and consistent deficit in marrow and circulating primitive hematopoietic cells (long-term culture-initiating cells) in acquired aplastic anemia. *Blood*. 1996;88:1983-91.
31. Orazi A, Albitar M, Heerema NA, Haskins S, Neiman RS. Hypoplastic myelodysplastic syndromes can be distinguished from acquired aplastic anemia by CD34 and PCNA immunostaining of bone marrow biopsy specimens. *Am J Clin Pathol*. 1997;107:268-74.
32. Matsui WH, Brodsky RA, Smith BD, Borowitz MJ, Jones RJ. Quantitative analysis of bone marrow CD34 cells in aplastic anemia and hypoplastic myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2006;20:458-62.
33. Cha CH, Park CJ, Chi HS, Seo EJ, Jang S, Cho YU, et al. CD34 and p53 immunohistochemical stains differentiate hypocellular myelodysplastic syndrome (hMDS) from aplastic anemia and a CD34 immunohistochemical stain provides useful survival information for hMDS. *Ann Lab Med*. 2014;34:426-32.
34. Hamzic E, Whiting K, Gordon Smith E, Pettengell R. Characterization of bone marrow mesenchymal stromal cells in aplastic anaemia. *Br J Haematol*. 2015;169:804-13.
35. Te Velde J, Haak HL. Aplastic anaemia. Histological investigation of methacrylate embedded bone marrow biopsy specimens; correlation with survival after conventional treatment in 15 adult patients. *Br J Haematol*. 1977;35:61-9.
36. Ji JL, Xu MY, Huang F, Liu H. Bone marrow angiogenesis in aplastic anemia. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*. 2006;14:79-82.
37. Sadahira Y, Wada H, Manabe T, Yawata Y. Immunohistochemical assessment of human bone marrow macrophages in hematologic disorders. *Pathol Int*. 1999;49:626-32.
38. Young NS, Alter BP. *Aplastic anemia acquired and inherited*. Philadelphia: W.B. Saunders Company; 1994.
39. De Planque MM, Van Krieken M, Klui-Nelemans HC, Colla LP, Van der Burgh F, Brand A, Kluin PM. Bone marrow histopathology of patients with severe aplastic anaemia before treatment and at follow-up. *Br J Haematol*. 1989;72:439-44.
40. Sale GE, Rajantie J, Doney K, Appelbaum FR, Storb R, Thomas ED. Does histologic grading of inflammation in bone marrow predict the response of aplastic anaemia patients to antithymocyte globulin therapy? *Br J Haematol*. 1987;67:261-6.
41. Rozman C, Marín P, Brugués R, Feliú E. Valor pronóstico de la histopatología medular en la anemia aplásica. *Sangre*. 1985;30:982-92.
42. Djaldetti M, Blay A, Bergman M, Salman H, Bessler H. Pure red cell aplasia--a rare disease with multiple causes. *Biomed Pharmacoter*. 2003;57:326-32.
43. Fisch P, Handgretinger R, Schaefer HE. Pure red cell aplasia. *Br J Haematol*. 2000;111:1010-22.
44. Krijanovski OI, Sieff CA. Diamond-Blackfan anemia. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1997;11:1061-77.
45. Ramadan KM, Anderson JA, McMullin MF, Markey GM. Idiopathic pure red cell aplasia: first report on CD8 positive lymphocytosis in bone marrow biopsy sections. *J Clin Pathol*. 2005;58:1118-20.
46. Go RS, Lust JA, Phyllyk RL. Aplastic anemia and pure red cell aplasia associated with large granular lymphocyte leukemia. *Semin Hematol*. 2003;40:196-200.

47. Hernández Nieto L, Jorge Hernández JA, García Abreu JJ, Brito Barroso ML, Santolaria FJ, Marsá Vila L. Multiple septic osteomedullary necrosis secondary to toxic agranulocytosis as a second haematologic disease. Seventh Meeting ISH. Barcelona; 1983: abstract 364.
48. Demiroglu YZ, Yeter TT, Boga C, Ozdogu H, Kizilkilic E, Bal N, et al. Bone marrow necrosis: a rare complication of herbal treatment with *Hypericum perforatum* (St. John's wort). *Acta Medica*. 2005;48:91-4.
49. Diebold J, Molina T, Camilleri-Broet S, Le Tourneau A, Audouin J. Bone marrow manifestations of infections and systemic diseases observed in bone marrow trephine biopsy review. *Histopathology*. 2000;37:199-211.
50. Murphy PT, Sivakumaran M, Casey MC, Liddicoat A, Wood JK. Lymphoma associated bone marrow necrosis with raised anticardiolipin antibody. *J Clin Pathol*. 1998;51:407-9.
51. Staples WG, Getaz EP, Botha D. Disseminated tuberculosis, bone marrow necrosis and lymphoma: a case report. *S Afr Med J*. 1977;52:680-3.
52. Paydas S, Ergin M, Baslamisli F, Yavuz S, Zorludemir S, Sahuin B, et al. Bone marrow necrosis: clinicopathologic analysis of 20 cases and review of the literature. *Histopathology*. 2002;70:300-5.
53. Cowan JD, Rubin RN, Kies MS, Cerezo L. Bone marrow necrosis. *Cancer*. 1980;46:2168-71.
54. Bohm J. Gelatinous transformation of the bone marrow: the spectrum of underlying diseases. *Am J Surg Pathol*. 2000;24:56-65.
55. Tavasoli M, Eastlund T, Yam LT, Neiman RS, Finkel H. Gelatinous transformation of bone marrow in prolonged self-induced starvation. *Scand J Haematol*. 1976;16:311-9.
56. Jain R, Singh ZN, Khurana N, Singh T. Gelatinous transformation of bone marrow: a study of 43 cases. *Indian J Pathol Microbiol*. 2005;48:1-3.
57. Gil-Fernández JJ, Tamayo Martín AT, Fernández Rañada JM. Transformación gelatinosa de la médula ósea causada por hipotiroidismo grave. *Med Clin (Barc)*. 2004;123:276.
58. Wang C, Amato D, Fernández B. Gelatinous transformation of bone marrow from a starch-free diet. *Am J Hematol*. 2001;68:58-9.
59. Abella E, Feliú E, Granada I, Milla F, Oriol A, Ribera JM, et al. Bone marrow changes in anorexia nervosa are correlated with the amount of weight loss and not with other clinical findings. *Am J Clin Pathol*. 2002;118:582-8.

La biopsia medular en los síndromes mielodisplásicos y las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas

María Rozman Jurado, José María Raya Sánchez

1. Síndromes mielodisplásicos

1.1. Concepto y clasificación

Los síndromes mielodisplásicos (SMD) son enfermedades clonales de las células madre hematopoyéticas caracterizadas por presentar citopenias, displasia en una o más de las 3 líneas mieloides, hematopoyesis ineficaz y un riesgo incrementado de desarrollar una leucemia mieloide aguda (LMA). A diferencia de lo que ocurre con las neoplasias mieloproliferativas crónicas (NMPc), en este caso la hematopoyesis es ineficaz y está incrementada la apoptosis o muerte celular programada. Por todo ello, los SMD tienen característicamente una médula ósea rica y una sangre periférica pobre. Los pacientes presentan anemia, leucopenia y trombocitopenia en distintas combinaciones, y síntomas relacionados con dichas citopenias. La médula ósea suele ser hiper celular, en contraste con las citopenias de origen periférico, y los precursores hematopoyéticos muestran signos dismórficos. Además, puede existir una proporción de células blásticas, siempre inferior al 20% de la celularidad medular (si es superior, ya se considera leucemia aguda). Cabe señalar aquí que, en las anteriores clasificaciones de la Organización Mundial de la Salud (OMS), en las neoplasias mieloides con hiperplasia eritroide ($\geq 50\%$ de serie roja) el 20% de blastos se calculaba respecto a la celularidad no eritroide, mientras

que la reciente clasificación⁽¹⁾ establece este porcentaje respecto a la celularidad global. Por tanto, algunos casos que antes eran considerados LMA ahora deben diagnosticarse de SMD.

En los SMD se encuentran con frecuencia algunas alteraciones citogenéticas, sobre todo trisomía 8 y deleciones de 5q, 7q y 20q, y tienen implicaciones pronósticas. La clasificación de los SMD se basa en una combinación de: las líneas de la hematopoyesis afectas (eritroide, granulocítica y megacariocítica), el porcentaje de blastos en la médula ósea y en la sangre periférica, y las alteraciones citogenéticas (Tabla 1)⁽¹⁾.

La evolución de los SMD es muy variable y las posibilidades terapéuticas van desde el tratamiento únicamente de soporte hasta terapias agresivas no exentas de riesgo. Por este motivo y con el objetivo de intentar precisar la supervivencia de cada caso

Tabla 1. Clasificación de los síndromes mielodisplásicos (SMD)⁽¹⁾

- SMD con displasia unilineal
- SMD con sideroblastos en anillo (SMD-SA)
 - SMD-SA con displasia unilineal
 - SMD-SA con displasia multilineal
- SMD con displasia multilineal
- SMD con exceso de blastos
- SMD con del(5q) aislada
- SMD no clasificable

en concreto, en 1997 Greenberg *et al.* propusieron el índice pronóstico IPSS (International Prognostic Scoring System), utilizando como parámetros el número de citopenias, el porcentaje de blastos y el cariotipo⁽²⁾. Más adelante se incorporaron a los índices pronósticos datos de la biopsia medular (BMO)⁽³⁾ y el subtipo según la clasificación de la OMS, definiendo el WPSS (WHO classification-based Prognostic Scoring System); y, recientemente, en 2012 se publicó el IPSS revisado (IPSS-R).

La caracterización morfológica de los SMD debe realizarse en el aspirado medular y el frotis de sangre periférica, evaluando los rasgos displásicos en cada una de las series hematopoyéticas y cuantificando el porcentaje de células blásticas^(4,5). Sin embargo, el valor de la BMO en los SMD está bien establecido, pues es útil para descartar situaciones reactivas en las que pueden observarse rasgos displásicos en la hematopoyesis, para evaluar la celularidad, la fibrosis y la topografía de los precursores, y también es de ayuda, como ya se ha indicado, para refinar el índice pronóstico IPSS^(3,6). En las neoplasias mieloides con fibrosis y/o hipocelularidad la integración de los datos citológicos e histológicos mejora el diagnóstico de SMD.

1.2. La biopsia de médula ósea en los síndromes mielodisplásicos

Como ya se ha dicho, la BMO puede añadir información muy valiosa para el diagnóstico y el pronóstico de los SMD, y será de especial utilidad en pacientes jóvenes que vayan a ser sometidos a tratamientos intensivos y también en casos especiales de SMD, como los SMD hipoplásicos (SMD-H) y los que cursan con fibrosis medular intensa.

Por lo que respecta a la celularidad global, en la mayoría de los SMD esta suele estar aumentada. La paradoja de una médula ósea “rica” con una sangre periférica “pobre” se debe al menos en parte a un incremento de la apoptosis celular. En aquellos casos con sospecha de SMD y celularidad disminuida se planteará el diagnóstico diferencial con la aplasia medular y la hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN) (véase más adelante).

En cuanto a los precursores de las 3 series hematopoyéticas, están representados en distintas proporciones, se observa maduración hacia formas maduras y presentan distintos grados de displasia. Por lo que respecta a su distribución, si la arquitectura medular normal se caracteriza por unos nidos eritroblásticos bien formados entre los que se dispone la serie blanca, con sus elementos jóvenes en las zonas paratrabeculares y perivasculares y la maduración hacia el centro de las áreas celulares, en los SMD aparece una médula ósea desestructurada.

La displasia megacariocítica es, con diferencia, la que puede apreciarse mejor en la biopsia. Los megacariocitos displásicos característicos de los SMD son de tamaño inferior a los normales y tienen el núcleo hiposegmentado, múltiples núcleos redondos dispersos o núcleo hiper cromático (**Figura 1**). Los megacariocitos de tamaño discretamente inferior al normal y con el núcleo redondeado, no lobulado, se relacionan con la delección de 5q, alteración citogenética típica del SMD con del(5q) aislada, pero también presente en muchos otros SMD^(7,8). Los micromegacariocitos son elementos mucho más pequeños, del tamaño de un promielocito, y también pueden tener uno o varios núcleos pequeños redondos (**Figura 2**). A diferencia de lo que ocurre en las NMPc, en los SMD los megacariocitos no acostumbran a agruparse. Las tinciones inmunohistoquímicas son de gran ayuda para apreciar la distribución y morfología displásica de los megacariocitos. Para ello, pueden utilizarse CD61, CD42, CD31 o factor VIIIIRA.

La serie roja está aumentada en algunas formas de SMD, como la anemia refractaria sideroblástica. La displasia eritroide es más difícil de apreciar en la biopsia que la megacariocítica, siendo lo más obvio la macrocitosis y las cromatinas megaloblastoides. Los signos displásicos en la serie granulocítica no se aprecian con facilidad en la BMO, aunque sí puede observarse en los SMD una distribución anómala de la serie blanca, con aumento de formas jóvenes alejadas de la habitual localización paratrabecular y perivascular, y también algún grado de desviación a la izquierda, es decir, aumento relativo de elementos mononucleados (promielocitos y mielocitos) y disminución de los segmentados.

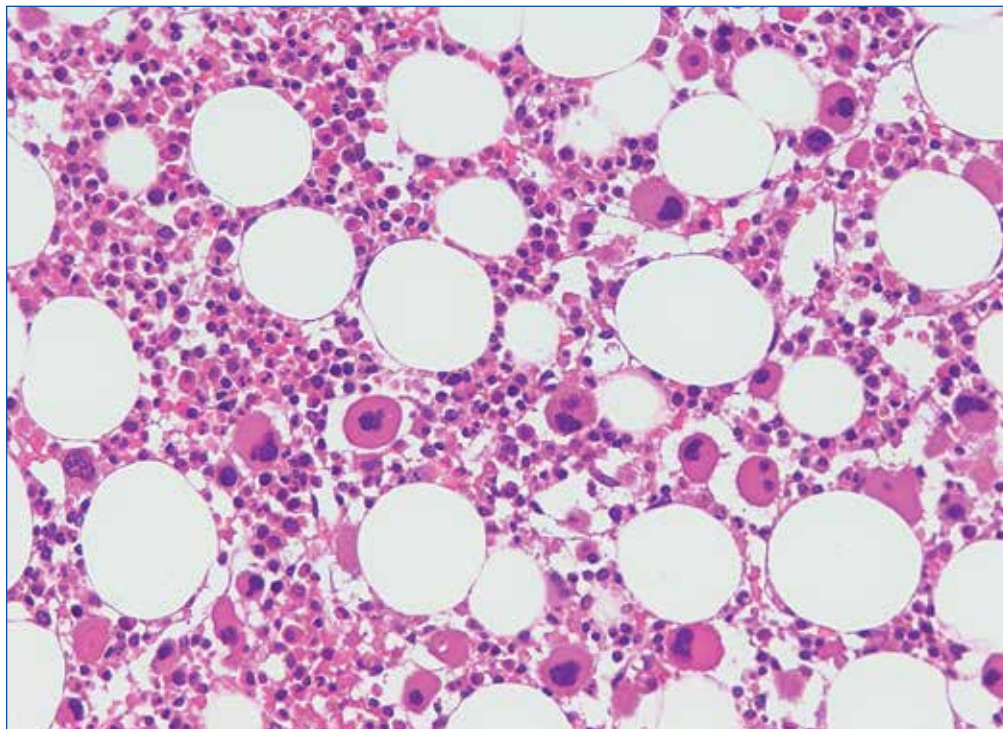


Figura 1. Biopsia medular en un caso de síndrome mielodisplásico en la que se observan abundantes megacariocitos de talla pequeña y núcleo redondo o hipolobulado (HE $\times 200$).

Uno de los parámetros más importantes, si no el más importante, a evaluar en las BMO de los SMD es la cantidad y distribución de las células blásticas. Hace ya más de 30 años que se describió el

fenómeno de LAPI (localización anómala de precursores inmaduros) o agregados centromedulares de células blásticas, y el valor pronóstico adverso que poseen. Más recientemente, en el año 2003, Ver-

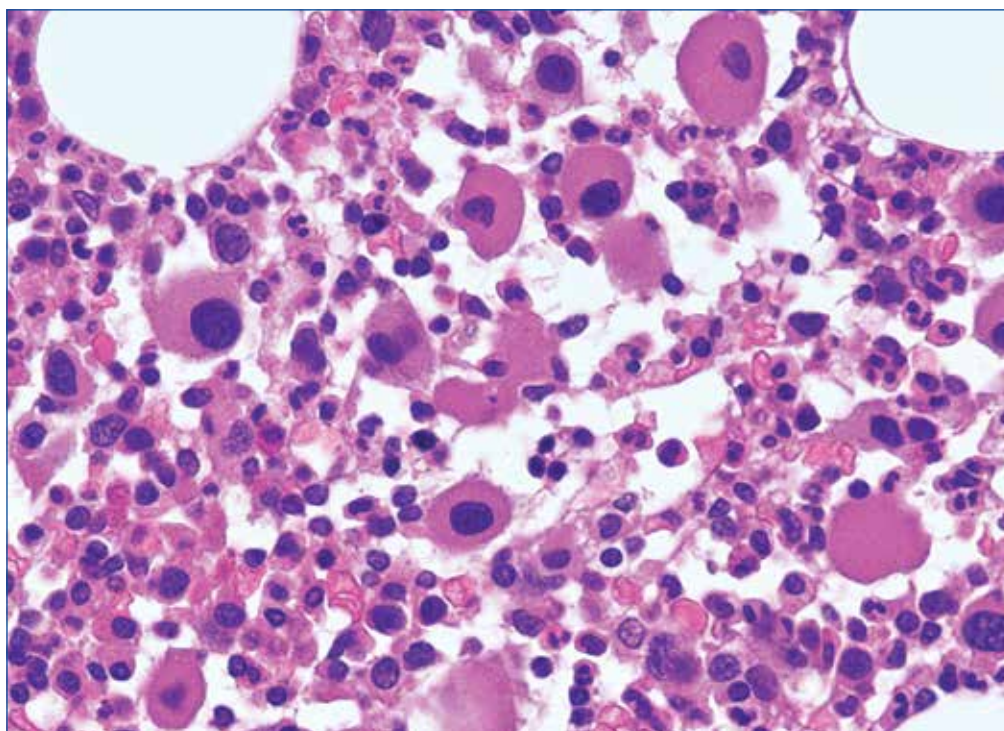


Figura 2. Megacariocitos pequeños de núcleo redondo, no lobulado, junto a algún micromegacariocito (HE $\times 400$).

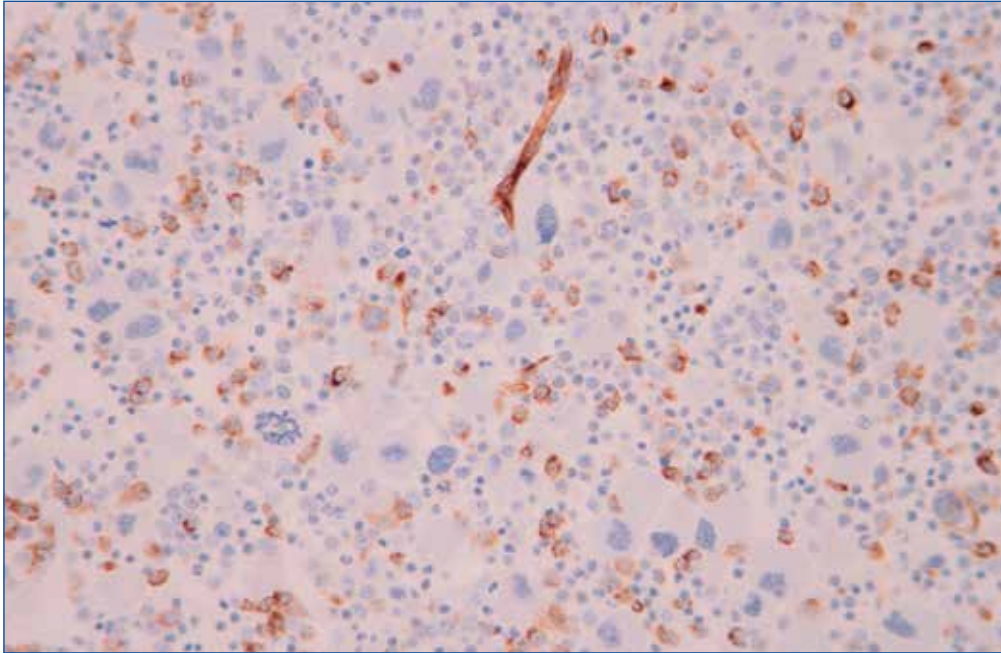


Figura 3. Proliferación blástica en un caso de síndrome mielodisplásico con exceso de blastos de tipo 1 de la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 (CD34 × 100).

burg *et al.* confirmaron el valor pronóstico de la presencia de LAPl, definida como al menos 3 grupos centromedulares de 3 a 5 precursores mieloides inmaduros o agregados de más de 5 precursores mieloides. Estos autores también demostraron el valor pronóstico adverso de la presencia de más de un 1% de células CD34 positivas en la BMO⁽³⁾.

Aunque en general es sencillo evaluar la cantidad de blastos mediante la tinción con CD34 (**Figura 3**), existen algunas limitaciones, como el aumento en la densidad microcapilar, que puede dificultar la distinción entre pequeños vasos y blastos, y la negatividad de los blastos para CD34, que ocurre en algunos SMD⁽⁶⁾. En estos casos, la tinción para CD117 será de ayuda, aunque debe recordarse que los proeritroblastos acostumbran a ser positivos para este marcador. Dicha tinción con CD117 nos será útil también para detectar la presencia de mastocitos dispersos en la BMO, hallazgo muy frecuente en los SMD. En ocasiones, puede observarse positividad para CD34 de megacariocitos maduros; este hallazgo se consideró inicialmente asociado a SMD y NMPC, aunque también puede darse en condiciones reactivas. Recientemente, se ha demostrado que un número elevado de megacariocitos CD34 positivos constituye un factor pronóstico adverso independiente en los SMD⁽⁹⁾.

1.3. Formas especiales de síndromes mielodisplásicos

1.3.1. Síndrome mielodisplásico hipoplásico

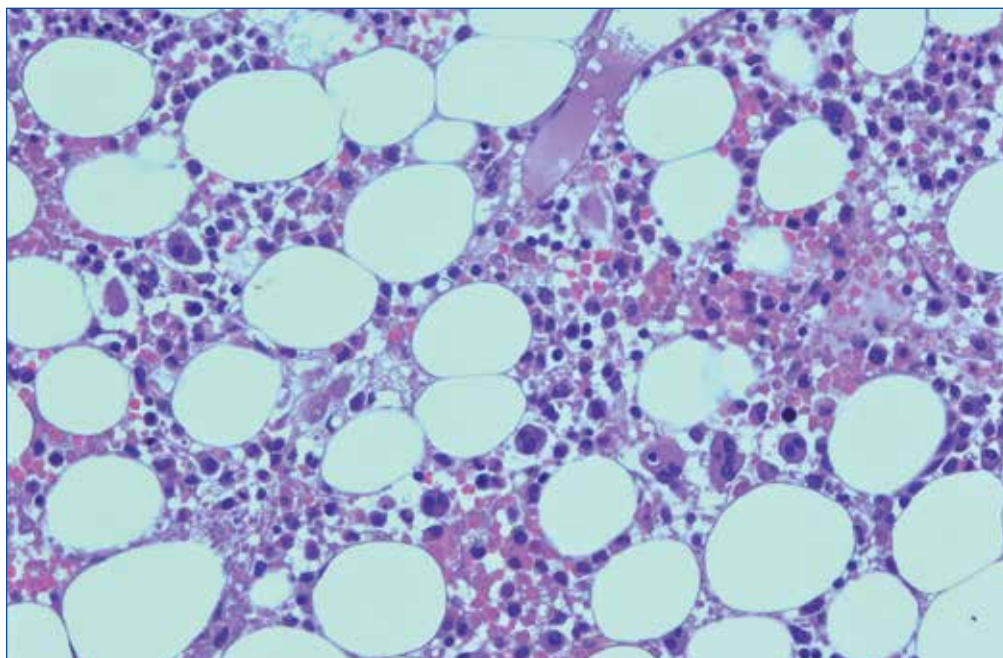
En aproximadamente un 10% de los SMD la BMO es hipocelular (**Figura 4**)^(1,4,10). Este grupo, aunque no se asocia a un pronóstico desfavorable, puede dar lugar a dificultades de diagnóstico diferencial, especialmente con la aplasia medular y la HPN (véase el capítulo 6), sin olvidar la mielopatía tóxica y los trastornos autoinmunes. En estos pacientes, las citopenias suelen ser extremas.

La distinción entre un SMD-H y una aplasia medular es clínicamente relevante, pues el pronóstico es distinto, la progresión a leucemia aguda es mucho mayor en el SMD-H y el abordaje terapéutico también puede diferir. En ambos trastornos la médula puede mostrar reacciones inespecíficas del estroma, tales como aumento de mastocitos, de linfocitos o folículos linfoides, hallazgos que no ayudan al diagnóstico diferencial.

Se considera que una médula es hipocelular cuando la celularidad es < 30% en pacientes menores de 60 años y cuando es < 20% en sujetos mayores de esa edad.

La presencia de megacariocitos (fácilmente identificables) en una médula desorganizada y la presencia

Figura 4. Médula ósea hipocelular en un caso de síndrome mielodisplásico hipoplásico. Obsérvese la dismorfia en la serie megacariocítica (HE \times 200).



de fibrosis favorecen el diagnóstico de SMD-H. La cantidad normal o elevada de células CD34 positivas y la tendencia de estas células a formar agregados (2 o más grupos de al menos 3 blastos) también apoyan este diagnóstico⁽⁵⁾. Por el contrario, aquellos casos que presentan disminución de células CD34 positivas corresponden habitualmente a aplasias medulares⁽¹¹⁾. Sin embargo, el diagnóstico diferencial puede ser especialmente difícil en casos con celularidad medular muy disminuida, $< 10\%$ ⁽¹⁰⁾. Otros datos que apoyan el diagnóstico de SMD-H son la citogenética (demostración de alteraciones típicas de los SMD), la presencia de blastos y/o displasia granulocítica en sangre periférica, y la displasia megacariocítica.

El diagnóstico diferencial con la HPN es particularmente difícil, si no imposible. Muchos pacientes con SMD-H presentan clonas HPN asociadas y los pacientes con HPN pueden tener rasgos morfológicos de mielodisplasia y, en ocasiones, alteraciones citogenéticas propias de los SMD⁽¹²⁾.

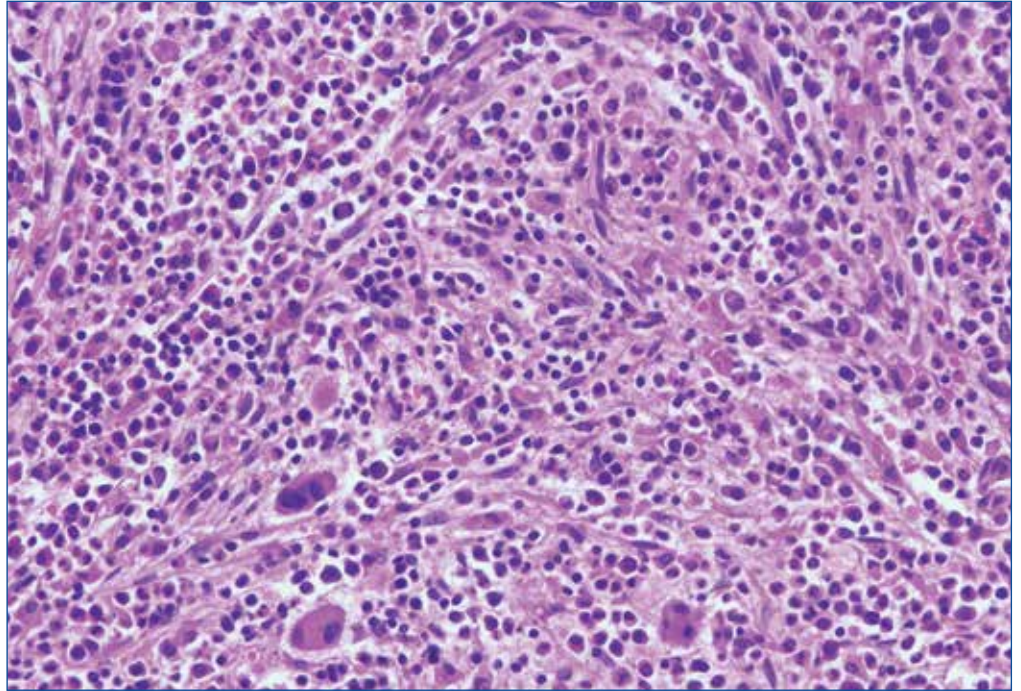
1.3.2. Síndrome mielodisplásico con fibrosis medular (SMD-F)

En aproximadamente otro 10-15% de los SMD se observa fibrosis medular significativa (Figuras 5 y 6)^(1,4).

Estos casos suelen presentar exceso de blastos y un curso clínico agresivo. Cabe señalar que, debido a la propia fibrosis, el aspirado medular es generalmente poco valorable e inadecuado para evaluar tanto la displasia como el porcentaje de blastos. Además, algunos subtipos de LMA, como la leucemia aguda megacarioblástica y la panmielosis aguda con mielofibrosis, así como algunas NMPC y neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (NMD/NMP) cursan con citopenias y marcada fibrosis medular, lo que puede complicar el diagnóstico diferencial. Para establecer el diagnóstico de SMD-F es necesario disponer de una BMO de buena calidad y que, junto a la fibrosis reticulínica intensa, presente displasia en al menos 2 líneas celulares, en pacientes con pancitopenia y sin visceromegalias, y descartando cualquier otra neoplasia mieloide (especialmente NMPC, NMD/NMP, LMA y mastocitosis). También deberán descartarse otros procesos como enfermedades autoinmunes, tumores metastásicos, linfomas y tricoleucemia.

Para el diagnóstico diferencial con la mielofibrosis primaria (MFP) se tendrá en cuenta que esta enfermedad, a diferencia de lo que ocurre con los SMD-F, suele cursar con esplenomegalia y aumento de LDH sérica. Desde el punto de vista histológico, la morfología y distribución de los megacariocitos es de gran ayuda para distinguir ambas entidades,

Figura 5. Médula ósea hiper celular con marcada fibrosis que provoca “arremolinamiento” celular y deformación de megacariocitos (estos sin tendencia a agruparse), en paciente con síndrome mielodisplásico con fibrosis medular (HE $\times 200$).



pues en la MFP forman grandes grupos densos y presentan tamaños muy variables, con elementos grandes y pequeños que presentan marcadas alteraciones nucleares, muy distintos por tanto de los megacariocitos pequeños, de núcleo hipolobulado y en general sueltos en el intersticio medular pro-

prios de los SMD. El incremento de células blásticas CD34 positivas y la presencia de agregados de estas células favorecen el diagnóstico de SMD-F, al igual que ocurre con la hiperplasia eritroide^[5].

Algunas formas de LMA, en especial la panmielosis aguda con mielofibrosis, también deberán

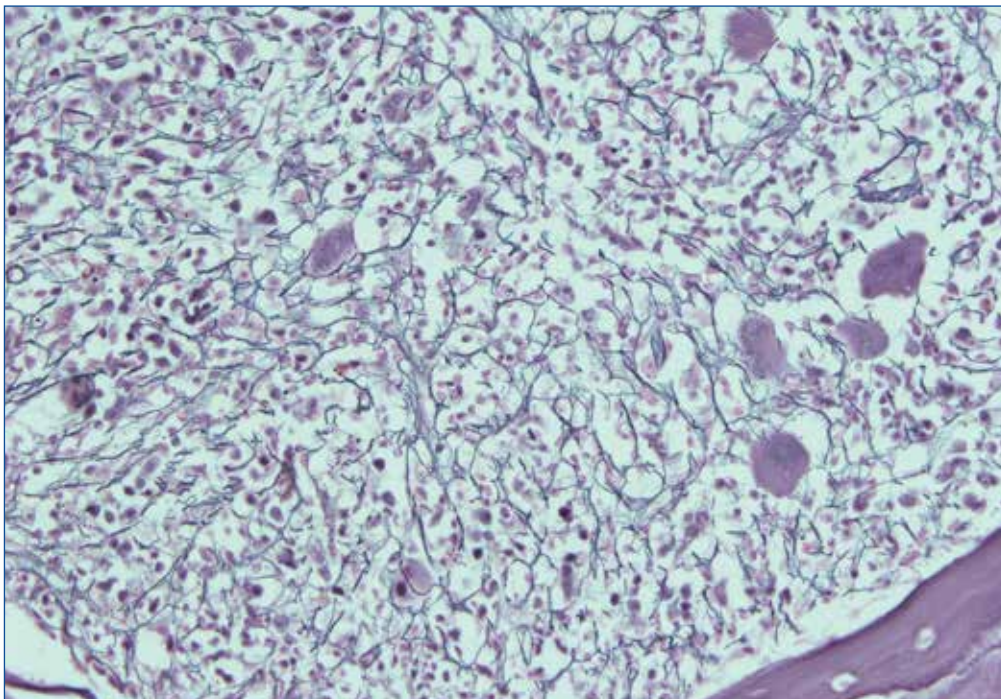


Figura 6. Fibrosis reticulínica significativa en un caso de síndrome mielodisplásico con fibrosis medular (Reticulina $\times 200$).

Tabla 2. Valor de la histología medular en los síndromes mielodisplásicos (SMD) y estudios recomendados

- Diagnóstico diferencial con leucemia mieloide aguda (LMA) cuando los aspirados están contaminados con sangre periférica, IHQ-CD34
- Diagnóstico diferencial con LMA hipoplásica, IHQ-CD34
- Diagnóstico diferencial con aplasia medular
- Grupos multifocales de células inmaduras, IHQ-CD34
- Distribución anómala de células inmaduras, IHQ-CD34
- Morfología y distribución/agrupación de megacariocitos, IHQ CD42, CD61, CD31, FVIII
- Demostración de fibrosis medular, tinción argéntica de Gomori
- Demostración de hiperplasia sinusoidal, IHQ-CD34
- Diagnóstico de SMD hipoplásico
- Diagnóstico de SMD con fibrosis medular

Adaptada de Valent. Leuk Res. 2007⁽⁶⁾

plantearse. En estos casos, la historia clínica del paciente es más recortada y en la BMO la cantidad de blastos es más elevada, por definición $\geq 20\%$.

El diagnóstico diferencial con las NMD/NMP es más difícil y requiere de forma imprescindible un abordaje integrado, teniendo en cuenta aspectos clínicos, histológicos y genético-moleculares (Tabla 2).

2. Neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas

2.1. Concepto y clasificación

Estas neoplasias son poco frecuentes y en ellas se solapan alteraciones mieloproliferativas (leucocitosis, trombocitosis, esplenomegalia) y mielodisplásicas (citopenias), por lo que en las clasificaciones anteriores al año 2008 se incluían en una de las 2 categorías anteriores, bien como SMD o como NMP. En ellas la médula ósea es hiper celular y los precursores de una o varias de las 3 líneas de la hematopoyesis muestran signos displásicos. Desde el punto de vista citogenético, el cariotipo convencional suele ser normal o mostrar alteraciones propias de los SMD (trisomía 8, monosomía 7, del7q, del13q,

del20q), en ocasiones asociadas a alteraciones moleculares típicas de NMP. Del mismo modo que en los últimos años el descubrimiento de las mutaciones de *JAK2* y *CALR* ha supuesto un cambio importante en el panorama diagnóstico y terapéutico de las NMPc, la presencia de mutaciones en otros genes está empezando a ser de gran ayuda para conocer mejor las NMD/NMP y poder demostrar la clonalidad de estos procesos. Es de esperar que en los próximos años estas mutaciones puedan aportar también información diagnóstica y pronóstica aplicada a la rutina diaria en estas neoplasias^(1,13).

La filosofía de la clasificación de la OMS ha sido y es definir enfermedades en función de un diagnóstico integrado clínico, hemoperiférico, fenotípico, genético, molecular e histopatológico. El abordaje así entendido es absolutamente imprescindible en las NMD/NMP, pues de otro modo no es posible diagnosticar correctamente estas entidades a caballo entre los SMD y las NMP. En este sentido, el diagnóstico diferencial entre los distintos subtipos y, entre estos, los SMD y las NMP, no recae de forma esencial en la BMO, sino en datos clínicos, del hemograma, citológicos y citogenético-moleculares. Debido a ello y también a la baja incidencia de estos procesos, existen pocos estudios que referieran las características histológicas de la médula ósea en las NMD/NMP (Tabla 3).

2.2. Leucemia mielomonocítica crónica (LMMC)

Esta neoplasia se caracteriza por una proliferación fundamentalmente de la línea monocítica (monocitos, promonocitos), acompañada de proliferación y

Tabla 3. Clasificación de las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas (NMD/NMP)⁽¹⁾

- Leucemia mielomonocítica crónica
- Leucemia mieloide crónica atípica *BCR-ABL* negativa
- NMD/NMP con sideroblastos en anillo y trombocitosis (antes anemia refractaria con sideroblastos en anillo y trombocitosis)
- Leucemia mielomonocítica juvenil
- NMD/NMP no clasificable

displasia granulocítica y en ocasiones megacariocítica. Para el diagnóstico se requiere la presencia de monocitosis persistente $> 1,0 \times 10^9/L$ inexplicable por otra causa (fundamentalmente infecciones y enfermedades del tejido conectivo)^(1,14-16). Desde el punto de vista molecular, es obligado descartar siempre el reordenamiento *BCR-ABL1* y, en casos con eosinofilia, los reordenamientos *PDGFRA*, *PDGFRB*, *FGFR1* y las fusiones *PCM1-JAK2*. Las mutaciones simultáneas en *TET2* y *SRSF2* parecen ser altamente específicas de esta entidad. Respecto al pronóstico, una variedad de datos clínicos, de laboratorio y moleculares han demostrado tener valor pronóstico en diferentes estudios. Destacan la distinción entre “LMMC de tipo proliferativo” y “LMMC de tipo displásico”, y la separación en función del número de blastos en LMMC-0, LMMC-1 y LMMC-2^(1,13).

La BMO es hipercelular, con hiperplasia monocítica y/o granulocítica y, por tanto, aumento de la relación mieloeritroide (Figura 7). La proliferación monocítica está siempre presente, pero acostumbra a ser difícil de apreciar en el aspirado y más aún en la BMO. Las técnicas citoquímicas en el aspirado medular constituyen el método más fiable de identificar los monocitos, aunque los estudios inmunohistoquímicos pueden ser de ayuda en ocasiones^(16,17). La ma-

yoría de los casos presentan disgranulopoyesis, que será más fácilmente apreciable en el frotis de sangre periférica y en el aspirado medular que en la biopsia. Muchos casos presentan también dismegacariopoyesis (hasta un 80% según algunos trabajos), consistente en micromegacariocitos o megacariocitos con segmentación nuclear anómala y cromatina hipercondensada⁽¹⁶⁾. La diseritropoyesis es menos frecuente y consistente generalmente en cambios megaloblásticos⁽¹⁴⁾. En aproximadamente un 30% de los casos se observa un grado variable de fibrosis reticulínica.

Como ya se ha dicho, la cantidad de blastos en la sangre periférica y en la médula ósea tiene valor pronóstico demostrado en la LMMC. Por lo que respecta a la médula, deberá establecerse si se encuentran en cantidad $< 5\%$ (LMMC-0), entre 5 y 9% (LMMC-1) o entre 10 y 19% (LMMC-2). Ello no suele ser fácil, pues las células monocíticas inmaduras (especialmente los promonocitos) deben incluirse en el recuento y pueden ser negativas para CD34⁽¹⁶⁾. A pesar de ello, este marcador sigue siendo útil para esta tarea (Figura 8)⁽¹⁷⁾.

Por lo que respecta a la proliferación celular atípica, esta suele ser positiva para los antígenos de diferenciación mielomonocítica CD13, CD33 y lisozima, con expresión variable de CD14, CD68, CD64 y

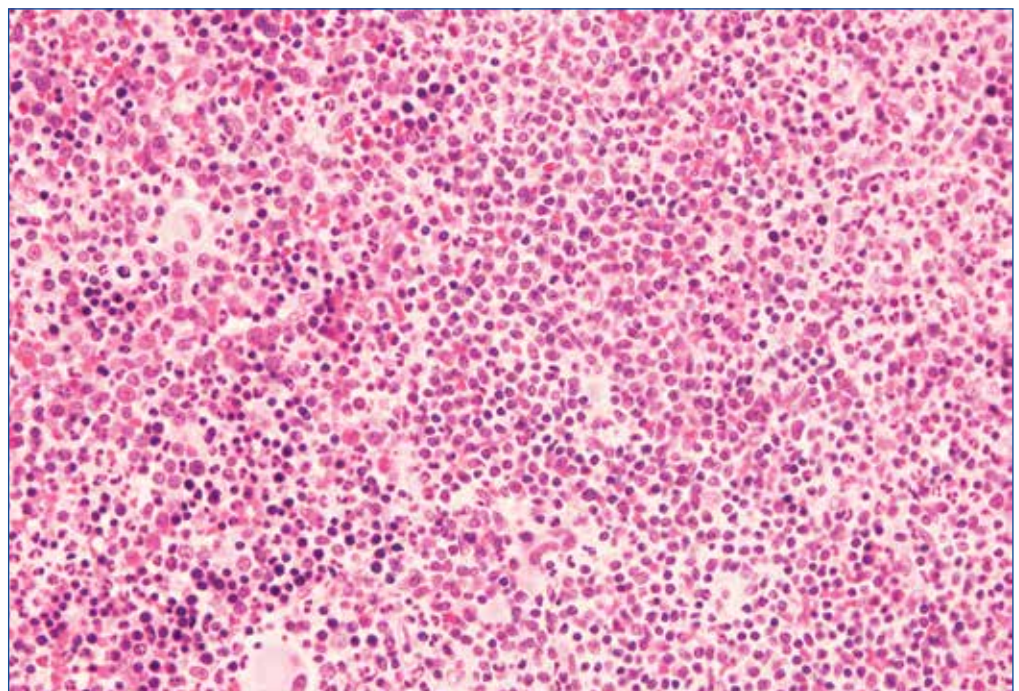
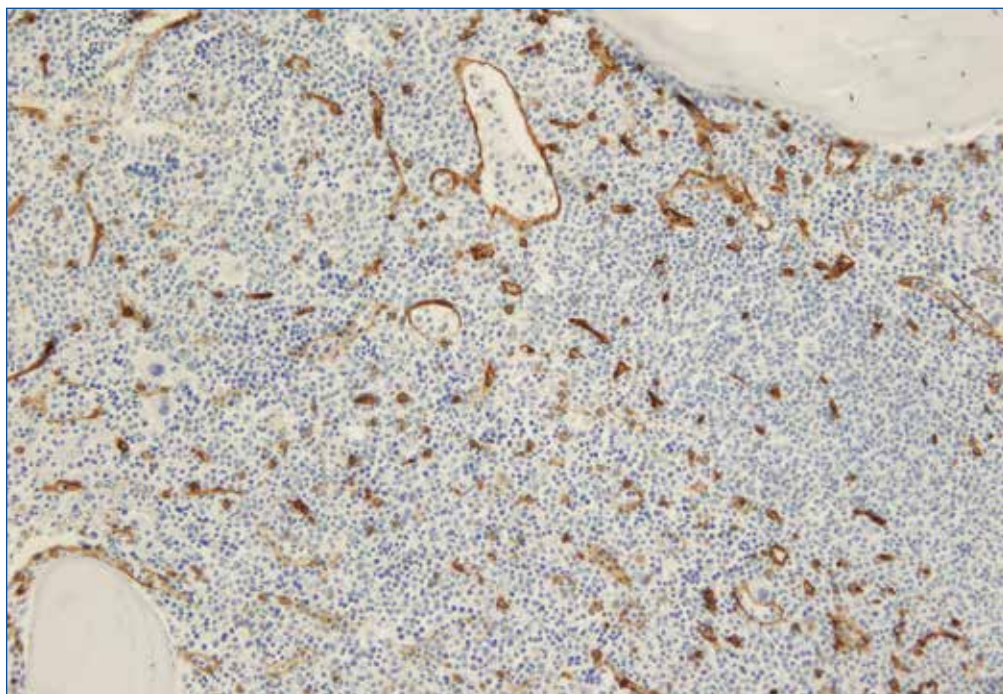


Figura 7. Hipercelularidad marcada e hiperplasia granulocítica (aumento de la relación mieloeritroide) en un caso de leucemia mielomonocítica crónica (HE $\times 200$).

Figura 8. Proliferación de la microvasculatura y aumento discreto de precursores inmaduros CD34+ en un paciente afecto de leucemia mielomonocítica crónica 1 (CD34 × 100).



CD163. Las aberraciones antigénicas, como la baja expresión de CD13, CD14, CD36, CD64 y HLA-DR, son poco frecuentes⁽¹⁶⁾.

Un hallazgo muy característico de la BMO en la LMMC, si bien no específico, es la presencia de nódulos de células mononucleares que aparentan agregados linfoides y pueden confundir al hematopatólogo^(14,16). Estos agregados están realmente compuestos por células dendríticas plasmocitoides maduras y pueden encontrarse también en biopsias de otros tejidos (piel, ganglio linfático, etc.). Inmunohistoquímicamente se reconocen por la expresión de CD123 y son asimismo positivas para CD14, CD43, CD68, CD45RA, CD4, CD33 débil y granzima B (**Figura 9**).

No debe olvidarse que los criterios diagnósticos de LMMC se basan en los datos de la sangre; ello es así debido a la ausencia de unos hallazgos histopatológicos patognomónicos y a las dificultades ya citadas en reconocer la población mielomonocítica neoplásica.

2.3. Leucemia mieloide crónica (LMC) atípica *BCR-ABL* negativa

Esta enfermedad es extremadamente rara. Se caracteriza por una proliferación granulocítica con leu-

cocitosis neutrofílica, mielemia y esplenomegalia, pero a diferencia de la LMC típica se acompaña con frecuencia de anemia grave, trombocitopenia y marcada displasia granulocítica, sin monocitosis ni basofilia. Para establecer el diagnóstico es indispensable descartar la presencia del reordenamiento *BCR-ABL1* y de los reordenamientos *PDGFRA*, *PDGFRB* y *FGFR1*. Las mutaciones típicamente asociadas a las NMPc (*JAK2*, *CALR*, *MPL*) están característicamente ausentes; en caso de que se plantee el diagnóstico diferencial con la leucemia neutrofílica crónica, será de ayuda la ausencia de mutación de *CSF3R*⁽¹³⁾.

La BMO en esta neoplasia suele ser marcadamente hiper celular ($\geq 90\%$), con una relación mie-loeritroide muy aumentada (generalmente superior a 10:1) debido a la hiperplasia granulocítica. La disgranulopoyesis está presente en la totalidad de los casos por definición (es un criterio diagnóstico) y suele ser prominente, caracterizada por desgranulación y sobre todo anomalías nucleares de tipo hiposegmentación nuclear con hipercondensación de la cromatina; esta alteración puede ser tan llamativa que en el pasado dio lugar a la descripción de una variante denominada "síndrome de condensación anómala de la cromatina"⁽¹⁴⁾. Sin embargo,

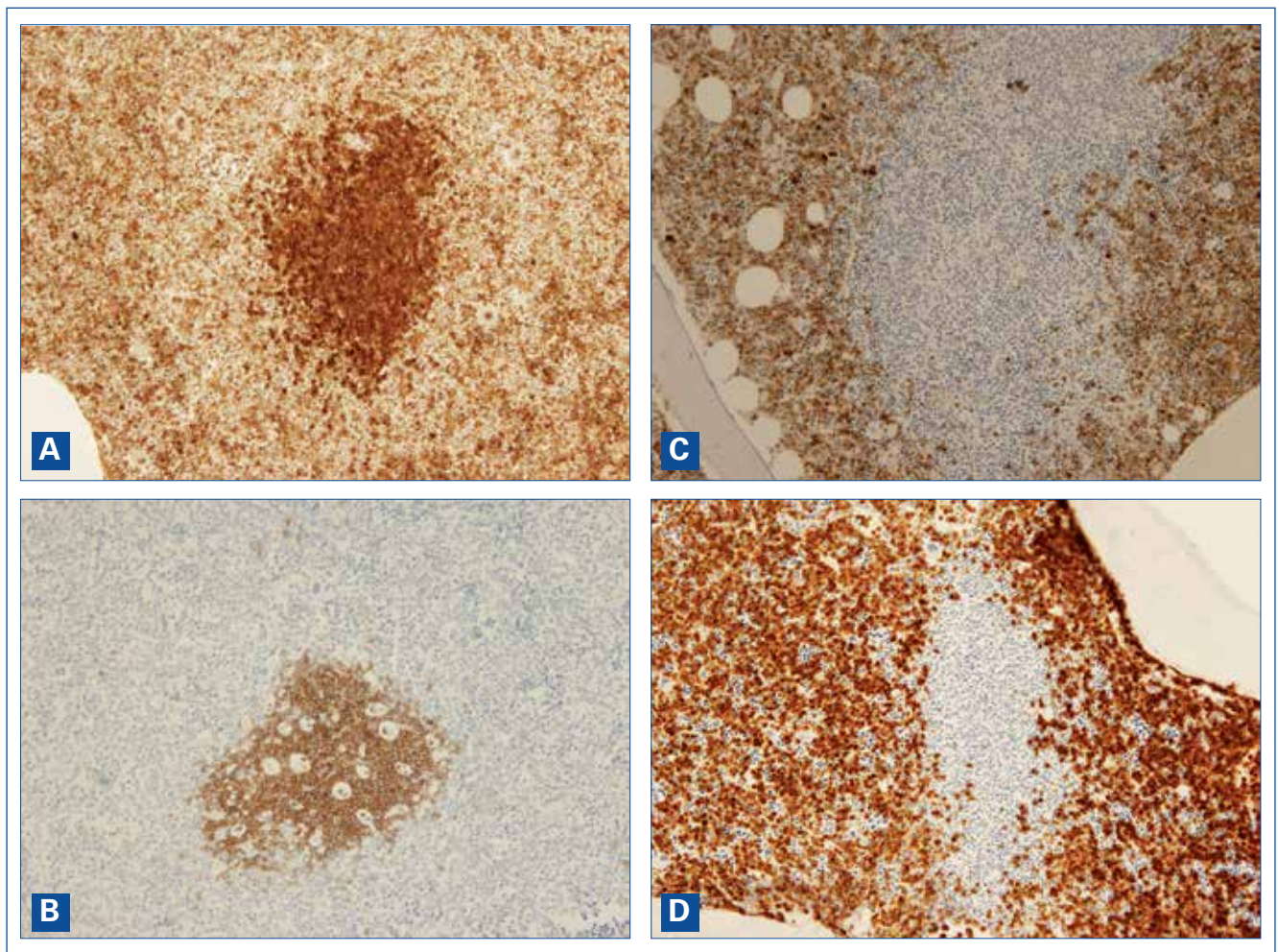


Figura 9. Leucemia mielomonocítica crónica: agregado de células dendríticas plasmocitoides maduras. A: positividad para CD4; B: positividad para CD123; C: negatividad para lisozima; D: negatividad para mieloperoxidasa.

cuando no es tan aparatosa puede ser difícilmente reconocible en la BMO, por lo que es obligado el estudio citomorfológico de la sangre periférica y del aspirado medular. La cantidad de megacariocitos es variable; en ocasiones están disminuidos, particularmente en casos con trombocitopenia. Sin embargo, la dismegacariopoyesis es frecuente, en aproximadamente la mitad de los casos los megacariocitos son de tipo SMD y en una cuarta parte existe una mezcla de megacariocitos de tipo SMD y de tipo NMPc. También se observa diseritropoyesis en un 40% de los casos⁽¹⁸⁾. Asimismo, puede observarse un cierto grado de fibrosis medular, que hasta en un 30% de los pacientes puede ser marcada (MF-2 o MF-3). Es relativamente frecuente (un tercio de los casos) que exista una cantidad de

blastos significativa (entre 5 y 19%), por lo que no es de extrañar que un 37% de los pacientes evolucione a LMA.

2.4. Neoplasia mielodisplásica/ mieloproliferativa con sideroblastos en anillo y trombocitosis (NMD/NMP-SA-T)

Esta neoplasia, antes denominada anemia refractaria con sideroblastos en anillo y trombocitosis (AR-SA-T) se caracteriza por: anemia refractaria con diseritropoyesis y sideroblastos en anillo en cantidad $\geq 15\%$ (hallazgos típicos de SMD), junto a trombocitosis $\geq 450 \times 10^9/L$, con megacariocitos medulares similares a los de la trombocitemia esencial (TE) o

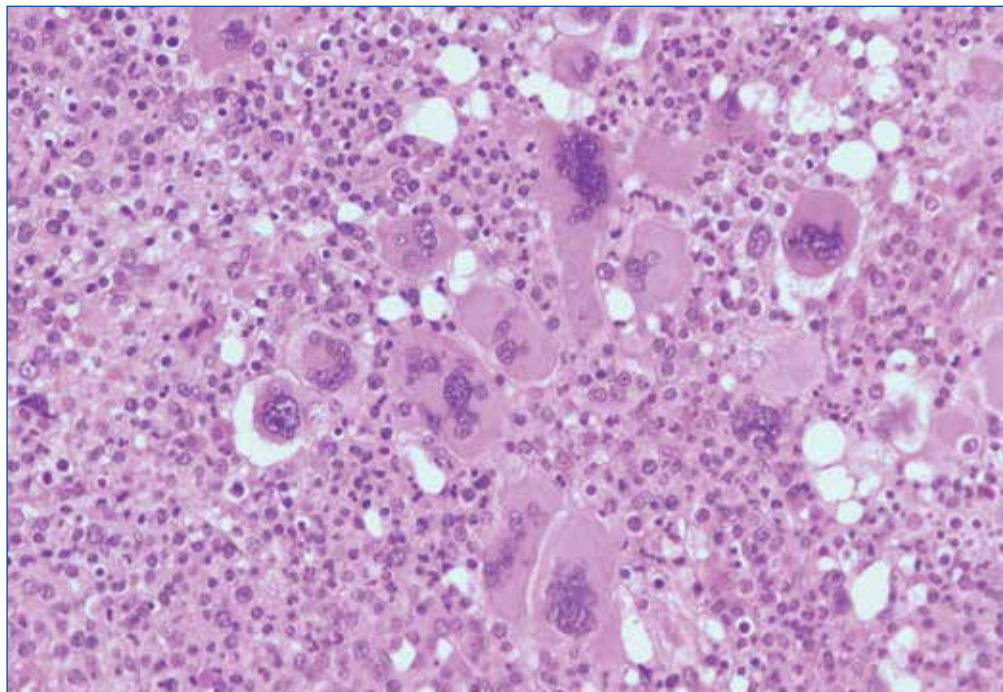


Figura 10. Neoplasia mielodisplásica/ mieloproliferativa con sideroblastos en anillo y trombocitosis: médula ósea hipercelular con aumento de megacariocitos de pequeños a grandes, de núcleo multilobulado y cierta tendencia a agruparse (HE $\times 200$).

la MFP (hallazgos más característicos de NMP)⁽¹⁾. A nivel molecular, se caracteriza por presentar mutaciones en *SF3B1* (60-80% de los casos, hallazgo propio de SMD), junto a mutaciones en *JAK2* (~ 60%), *CALR* (< 5%) o *MPL* (< 5%) (hallazgos de NMP). El descubrimiento de estas alteraciones ha sido clave para que esta enfermedad dejase de tener categoría provisional y haya sido incluida como entidad establecida en la clasificación de la OMS de 2016⁽¹⁾.

Si bien en los últimos años se han publicado muchos estudios sobre las alteraciones moleculares en la NMD/NMP-SA-T, no existen trabajos que describan exhaustivamente la histología medular. Esta se caracteriza por una médula ósea hipercelular, en la que destaca un aumento de los megacariocitos similar al que se observa en las NMPc Filadelfia-negativas, sobre todo los de la TE, es decir, son de tamaño grande o gigante y tienen el núcleo hipersegmentado (**Figura 10**). Los megacariocitos suelen formar grupos laxos o densos, y pueden existir formas pequeñas, cromatinas hipercondensadas o asincronismo madurativo núcleo-citoplasmático. La serie roja muestra diseritropoyesis similar a la observada en la anemia refractaria sideroblástica; en la BMO se aprecian fundamentalmente los

cambios megaloblásticos. También puede existir un cierto grado de fibrosis medular⁽¹⁹⁾. El aumento de los depósitos de hierro con $\geq 15\%$ de sideroblastos en anillo deberá estudiarse en el aspirado medular o en la impronta de biopsia.

2.5. Leucemia mielomonocítica juvenil (LMMJ)

Esta es una enfermedad agresiva de la edad pediátrica (mediana de 2 años, casi siempre varones), caracterizada por una proliferación excesiva de células granulocíticas y monocíticas. La sangre periférica generalmente presenta leucocitosis con mielema y monocitosis, trombocitopenia y a menudo anemia, así como eritroblastos circulantes. El porcentaje de blastos suele ser bajo y en una minoría de los casos se observa eosinofilia o basofilia. Una cuarta parte de los pacientes presentan monosomía 7 y el 90% mutaciones de genes de la vía de señalización RAS/MAPK (*PTPN11*, *KRAS*, *NRAS*, *CBL* o *NF1*)^(1,13).

La BMO muestra hallazgos inespecíficos, generalmente hipercelularidad con hiperplasia granulocítica, aunque en algunos casos predomina la eritropoyesis. Los monocitos medulares suelen estar entre el 5 y el 10%, y los blastos (incluyendo

promonocitos) siempre < 20%. Frecuentemente, los signos displásicos suelen ser mínimos, pero en algún caso puede observarse hipogranulación e hiposegmentación de los neutrófilos y macroblastosis en la serie roja.

2.6. Neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa no clasificable

Esta categoría de la clasificación de la OMS recoge un grupo heterogéneo de casos que no presentan características definitorias de ninguna otra NMD/NMP. Su frecuencia es muy baja (< 5% de todas las neoplasias mieloides). Para establecer este diagnóstico deberá realizarse un diagnóstico diferencial exhaustivo descartando cualquier otra NMD, NMP, NMD/NMP o LMA.

2.7. Diagnóstico diferencial de las neoplasias mielodisplásicas/mieloproliferativas

Existen algunas otras neoplasias mieloides que presentan características mielodisplásicas y mieloproliferativas concomitantes y que, sin embargo,

deben incluirse en otros apartados de la clasificación de la OMS⁽¹⁾:

- SMD con del5q aislada. Los pacientes afectados de este SMD presentan típicamente, como ya se ha indicado, displasia megacariocítica, caracterizada por elementos de tamaño inferior al normal y de núcleo redondo, monolobulado. Además, los megacariocitos suelen estar en cantidad aumentada y en muchos casos existe trombocitosis (hallazgo propio de las NMP). En los casos en que coexiste la del5q aislada con mutación de *JAK2* la trombocitosis puede ser aún más marcada^(7,8,20).

- Neoplasia mieloide con translocación t(3;3)(q21;q26) o inv(3)(q21q26). Esta neoplasia mieloide se caracteriza también por presentar trombocitosis, con aumento y marcada displasia de los megacariocitos (**Figura 11**). Se incluye dentro del capítulo de las LMA, pues se presenta generalmente de esta forma, aunque en algunos casos existe una fase previa, generalmente de corta duración, en la que aún no se alcanzan los criterios definitorios de leucemia aguda ($\geq 20\%$ de blastos)⁽²¹⁾.

- Neoplasias mieloides y linfoides con eosinofilia y reordenamientos *PDGFRA*, *PDGFRB* o *FGFR1*. Estas neoplasias se recogen en un capítulo separado de la clasificación de la OMS debido a sus cambios

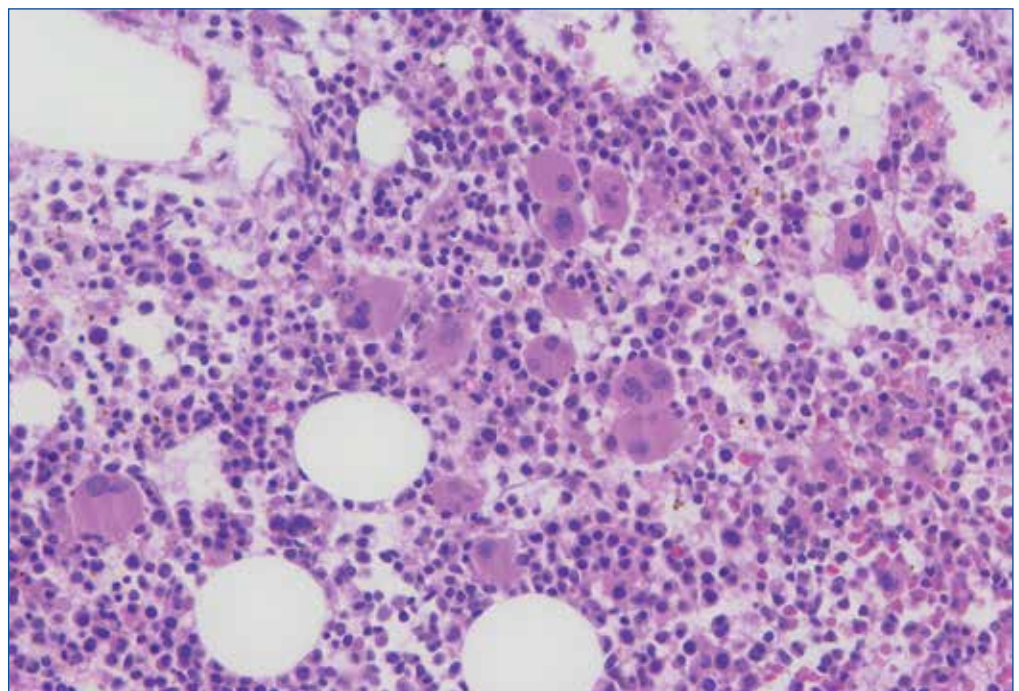


Figura 11. Médula ósea hipercelular con aumento de las 3 series y presencia de megacariocitos dismórficos, en un paciente afecto de neoplasia mieloide con t(3;3)(q21;q26) (HE $\times 200$).

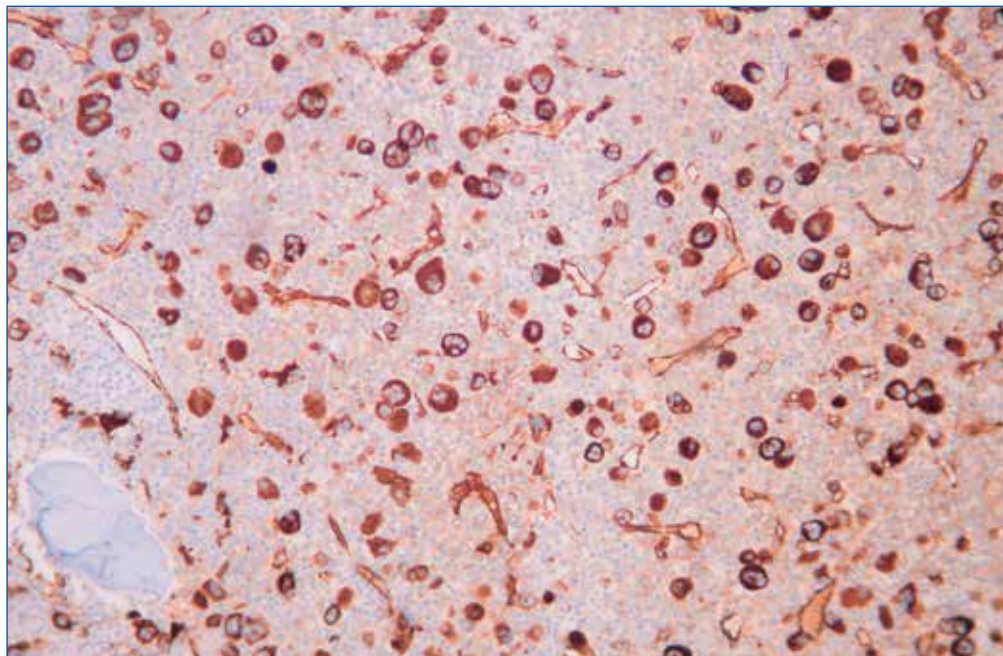


Figura 12. Neoplasia mielodisplásica/mieloproliferativa asociada a isocromosoma 17 aislado: muy marcada proliferación de megacariocitos displásicos y aumento de la vascularización (FVIII \times 100).

genético-moleculares específicos. Suelen presentarse como NMP con eosinofilia, aunque pueden hacerlo también como leucemia o linfoma linfoblástico o como NMD/NMP, en general parecido a la LMMC.

- Neoplasia mieloide mielodisplásica/mieloproliferativa asociada a isocromosoma 17 aislado. El isocromosoma 17 es una alteración citogenética frecuente en las enfermedades hematológicas malignas y habitualmente la encontramos dentro de los cariotipos complejos. Pero el isocromosoma 17 como alteración citogenética única solo está publicada en algún caso aislado o en una pequeña serie de casos, a pesar de lo cual algunos autores consideran que se trata de una enfermedad con entidad propia dadas sus características clínicas, morfológicas y pronósticas, bien en el contexto de una leucemia aguda *de novo* o de una NMD/NMP⁽²²⁾. Cuando el cuadro incluye características de NMD/NMP, la médula ósea suele ser hipercelular, con hiperplasia llamativa de serie megacariocítica, esta con rasgos displásicos evidentes (Figura 12). Resulta también frecuente la existencia de blastosis inferior al 20%, con una media del 8-9%, y también se ha descrito fibrosis colágena y reticulínica.

La BMO no presenta características particulares en ninguna de estas entidades, por lo que, como ya se ha indicado, es imprescindible hacer un diagnóstico integrado.

3. Bibliografía

1. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016;127:2391-405.
2. Greenberg P, Cox C, LeBeau MM, Fenau P, Morel P, Sanz G, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood*. 1997;89:2079-88.
3. Verburgh E, Achten R, Maes B, Hagemeijer A, Boogaerts M, De Wolf-Peeters C, et al. Additional prognostic value of bone marrow histology in patients subclassified according to the International Prognostic Scoring System for myelodysplastic syndromes. *J Clin Oncol*. 2003;21:273-82.
4. Vardiman JW. Hematopathological concepts and controversies in the diagnosis and classification of myelodysplastic syndromes. *Hematol Am Soc Hematol Educ Progr*. 2006:199-204.
5. Della Porta MG, Travaglino E, Boveri E, Ponzoni M, Malcovati L, Papaemmanuil E, et al. Minimal morphological criteria for defining bone marrow dysplasia: a basis for clinical implementation of WHO classification of myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2015;29:66-75.
6. Valent P, Horny HP, Bennett JM, Fonatsch C, Germing U, Greenberg P, et al. Definitions and standards in the diagnosis and treatment of the myelodysplastic syndromes: Consensus statements and report from a working conference. *Leuk Res*. 2007;31:727-36.

7. Patnaik MM, Lasho TL, Finke CM, Gangat N, Caramazza D, Holtan SG, et al. WHO-defined "myelodysplastic syndrome with isolated del(5q)" in 88 consecutive patients: survival data, leukemic transformation rates and prevalence of JAK2, MPL and IDH mutations. *Leukemia*. 2010;24:1283-9.
8. Musto P, Simeon V, Guariglia R, Bianchino G, Grieco V, Nozza F, et al. Myelodysplastic disorders carrying both isolated del(5q) and JAK2V617F mutation: concise review, with focus on lenalidomide therapy. *Onco Targets Ther*. 2014;7:1043-50.
9. Tang G, Wang SA, Menon M, Dresser K, Woda BA, Hao S. High-level CD34 expression on megakaryocytes independently predicts an adverse outcome in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Res*. 2011;35:766-70.
10. Bennett JM, Orazi A. Diagnostic criteria to distinguish hypocellular acute myeloid leukemia from hypocellular myelodysplastic syndromes and aplastic anemia: recommendations for a standardized approach. *Haematologica*. 2009;94:264-8.
11. Matsui WH, Brodsky R, Smith BD, Borowitz MJ, Jones RJ. Quantitative analysis of bone marrow CD34 cells in aplastic anemia and hypoplastic myelodysplastic syndromes. *Leukemia*. 2006;20:458-62.
12. Orazi A, Czado MB. Myelodysplastic syndromes. *Am J Clin Pathol*. 2009;132:290-305.
13. Mughal TI, Cross NCP, Padron E, Tiu RV, Savona M, Malcovati L, et al. An international MDS/MPN working group's perspective and recommendations on molecular pathogenesis, diagnosis and clinical characterization of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Haematologica*. 2015;100:1117-30.
14. Orazi A, Germing U. The myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms: myeloproliferative diseases with dysplastic features. *Leuk Off J Leuk Soc Am Leuk Res Fund*. 2008;22:1308-19.
15. Nazha A, Prebet T, Gore S, Zeidan AM. Chronic myelomonocytic leukemia: are we finally solving the identity crisis? *Blood Rev*. 2016;30:381-8.
16. Patnaik MM, Parikh SA, Hanson CA, Tefferi A. Chronic myelomonocytic leukaemia: a concise clinical and pathophysiological review. *Br J Haematol*. 2014;165:273-86.
17. Orazi A, Chiu R, O'Malley DP, Czado M, Allen SL, An C, et al. Chronic myelomonocytic leukemia: the role of bone marrow biopsy immunohistology. *Mod Pathol*. 2006;19:1536-45.
18. Wang SA, Hassarjian RP, Fox PS, Rogers HJ, Geyer JT, Chabot-Richards D, et al. Atypical chronic myeloid leukemia is clinically distinct from unclassifiable myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2015;123:2645-52.
19. Raya JM, Arenillas L, Domingo A, Bellosillo B, Gutiérrez G, Luño E, et al. Refractory anemia with ringed sideroblasts associated with thrombocytosis: comparative analysis of marked with non-marked thrombocytosis, and relationship with JAK2 V617F mutational status. *Int J Hematol*. 2008;88:387-95.
20. Patnaik MM, Lasho TL, Finke CM, Knudson RA, Ketterling RP, Chen D, et al. Isolated del(5q) in myeloid malignancies: clinicopathologic and molecular features in 143 consecutive patients. *Am J Hematol*. 2011;86:393-8.
21. Raya JM, Martin-Santos T, Luño E, Sanzo C, Perez-Sirvent ML, Such E, et al. Acute myeloid leukemia with inv(3) (q21q26.2) or t(3;3)(q21;q26.2): clinical and biological features and comparison with other acute myeloid leukemias with cytogenetic aberrations involving long arm of chromosome 3. *Hematology*. 2015;20:435-41.
22. Kanagal-Shamanna R, Bueso-Ramos CE, Barkoh B, Lu G, Wang S, García-Manero G, et al. Myeloid neoplasms with isolated isochromosome 17q represent a clinicopathologic entity associated with myelodysplastic/myeloproliferative features, a high risk of leukemic transformation, and wild-type TP53. *Cancer*. 2012;118:2879-88.

Biopsia de médula ósea en las neoplasias mieloproliferativas

Luis Hernández Nieto, José María Raya Sánchez,
Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera

1. Introducción

Las neoplasias mieloproliferativas (NMP) son enfermedades clonales de los precursores mieloides caracterizadas por proliferación incontrolada de una o varias líneas celulares, que conservan capacidad madurativa y de diferenciación, con las consiguientes citosis en sangre, a menudo metaplasia mieloide hepatoesplénica y, con cierta frecuencia, en fases avanzadas, fibrosis de la médula ósea. Pueden presentar transformación leucémica en porcentaje variable (3-10%). La excepción sería la leucemia mieloide crónica (LMC) no tratada o refractaria a los fármacos inhibidores de tirosina cinasa, en cuya situación el índice de transformación a leucemia aguda podría ser muy elevado. Con gran frecuencia, existe superposición de manifestaciones de las distintas enfermedades, siendo más dudosa la pretendida transformación entre ellas.

Las NMP que reconocía la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2008⁽¹⁾ eran la LMC *BCR-ABL1* positiva, la leucemia neutrofílica crónica, la policitemia vera (PV), la trombocitemia esencial (TE), la mielofibrosis primaria (MFP), la leucemia eosinofílica crónica no especificada de otro modo, la mastocitosis y la NMP inclasificable. En la revisión de la clasificación de la OMS de 2016⁽²⁾, se han introducido los siguientes cambios: división de la MFP en una MFP en fase

prefibrótica y otra en fase fibrótica, y la exclusión de las mastocitosis del grupo (Tabla 1).

La PV, la TE y la MFP, que suelen referirse como NMP Filadelfia negativas –Fi (–)–, no presentan el cromosoma Fi ni el gen de fusión *bcr-abl*, pero en un porcentaje variado de pacientes se detectan otras anomalías genéticas distintas descubiertas a partir de 2005. La más frecuente es la mutación V617F del gen *JAK2*, que revolucionó en su día la comprensión de la patogenia de estas enfermedades⁽³⁻⁵⁾. Dicha mutación está presente en más del 90% de los casos de PV y en alrededor del 50% en TE y MFP. La siguiente mutación en frecuencia en este subgrupo es la del gen calreticulina (*CALR*) descrita en 2013^(6,7), que se detecta en la mayoría de los casos de TE y MFP *JAK2* negativos. Por tanto, la

Tabla 1. Clasificación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 de las neoplasias mieloproliferativas (NMP)⁽²⁾

Leucemia mieloide crónica (LMC) *BCR-ABL1*

Leucemia neutrofílica crónica (LNC)

Policitemia vera (PV)

Trombocitemia esencial (TE)

Mielofibrosis primaria (MFP)

- MFP en estadio prefibrótico o precoz
- MFP en fase fibrótica

NMP inclasificables

investigación de la mutación de *JAK2* y la de *CALR* en los casos negativos para la primera forman parte esencial en el diagnóstico de estas entidades. En los casos negativos para ambas mutaciones, pueden registrarse las de otros genes, como *TET*, *MPL* u otros, en un número de casos muy bajo.

2. Leucemia mieloide crónica *BCR-ABL1* positiva

2.1. Concepto

La LMC es una NMP que implica fundamentalmente a la serie granulocítica, pero también a la megacariocítica (Tabla 2). Cursa siempre con leucocitosis y mielema, y a menudo con trombocitosis. En su patogenia tiene una trascendencia primordial la translocación cromosómica recíproca t(9;22), con una pérdida

de material en los brazos largos del cromosoma 22: cromosoma Fi. La translocación implica el reordenamiento de los genes *bcr* y *abl*, y origina el complejo *bcr-abl*, el cual codifica proteínas con actividad tirosina cinasa anormales, de las cuales la más relevante es la p210, causantes de trastornos en la adhesión, la apoptosis y la proliferación granulocítica. La crisis blástica es una transformación a leucemia mieloide aguda, de pronóstico infausto hasta la irrupción de los modernos fármacos inhibidores de tirosina cinasa, como el imatinib, y los de segunda generación dasatinib y nilotinib, sin que aún se pueda decir que la LMC sea curable en los pacientes que no respondan o sean intolerantes a dichos fármacos. Los estudios evolutivos que analizan la respuesta de la enfermedad a estos fármacos y su duración revelan que aproximadamente la mitad de los pacientes tratados y que obtienen una respuesta molecular sostenida pueden interrumpir el tratamiento, aunque ulteriores estudios podrán matizar diversos factores que influyan sobre qué métodos de discontinuación son más eficaces de cara a obtener la mejor remisión libre de tratamiento⁽⁸⁾. Por el momento, la retirada de la medicación es aún experimental y debe limitarse a registros o ensayos clínicos controlados⁽⁹⁾.

Tabla 2. Criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) (2016) de leucemia mieloide crónica (LMC)⁽²⁾

Leucocitosis debida a incremento de neutrófilos y sus precursores (promielocitos, mielocitos y metamielocitos constituyendo el 10% o más de leucocitos)

Disgranulopoyesis, que puede incluir grumos de cromatina anormales

Ausencia de, o mínima, basofilia; habitualmente los basófilos son menos del 2% de los leucocitos

Ausencia de, o mínima, monocitosis; monocitos menos del 10% de los leucocitos

Médula ósea hiper celular, con proliferación y displasia granulocítica, con o sin displasia en las líneas eritroide y megacariocítica

< 20% de blastos en sangre y médula ósea

No evidencia de reordenamientos de *PDGFRA*, *PDGFRB* o *FGFR1*, o *PCM1-JAK2*

No reunir los criterios OMS de mielofibrosis primaria (MFP), policitemia vera (PV) o trombocitemia esencial (TE)

Algunas NMP, especialmente en fase acelerada y/o en la mielofibrosis posttrombocitémica y postpolicitémica que cursen con neutrofilia. Una historia previa de NMP, rasgos de NMP en la biopsia medular y/o mutaciones asociadas a NMP (en *JAK2*, *CALR* o *MPL*) tienden a excluir el diagnóstico de LMC. Al contrario, este último se sustenta en presencia de mutaciones de *SETBP1* y/o *ETNK1*. La presencia de mutaciones en *CSFR3R* es rara en LMC y, si se detecta, debe hacerse lo antes posible una cuidadosa revisión morfológica, para excluir el diagnóstico alternativo de leucemia neutrofilica crónica u otra neoplasia mieloide

2.2. Histopatología de la médula ósea

2.2.1. Fase crónica

En la LMC en fase crónica, la biopsia de la médula ósea (BMO) no es imprescindible para el diagnóstico, que se hace mediante la comprobación de un cuadro sanguíneo característico (leucocitosis neutrofilica con mielema sin hiato leucémico), la presencia del cromosoma Fi y el reordenamiento *bcr-abl*. No obstante, la exploración histológica aporta datos muy útiles que ratifican el diagnóstico, contribuyen a su deslindamiento de otras NMP y permiten una valoración evolutiva.

Lo primero que llama la atención a pequeño aumento es la muy alta relación celularidad/grasa (C/G), independientemente de la edad del paciente, con muy escasos y aislados adipocitos (médula empaquetada), aunque ocasionalmente pueden ob-

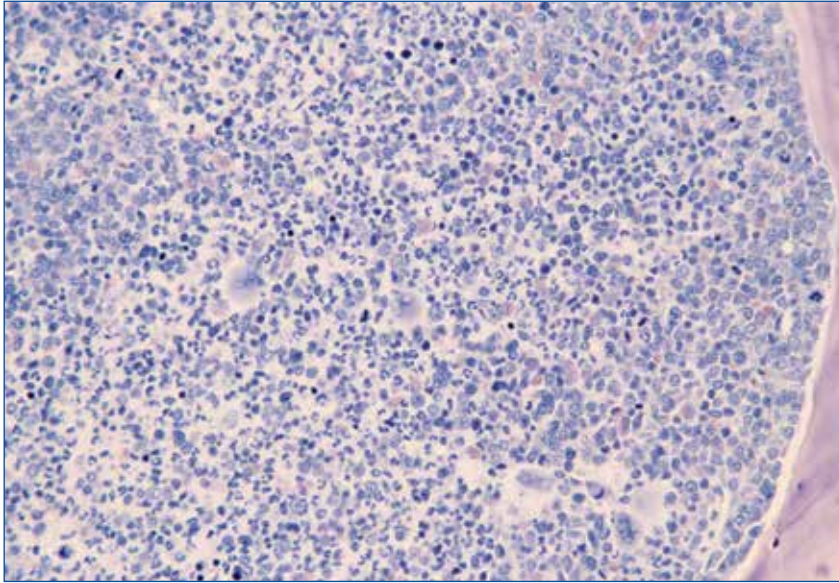


Figura 1. Leucemia mieloide crónica en fase crónica: médula marcadamente hipercelular con ausencia de adipocitos e hiperplasia significativa de precursores mieloides (Giemsa $\times 250$).

servarse médulas no tan celulares (**Figuras 1 y 2**). Enseguida veremos que está muy reducida la representación de la serie roja (escasos y pequeños nidos eritroides) y que los megacariocitos, que varían de abundantes a muy abundantes, son peculiares: pequeños y de núcleo redondeado, con disminución de lobulación e incluso con lóbulos redondos independientes (algo similar a lo que vemos en algunos síndromes mielodisplásicos). Por lo demás, llena los espacios medulares la serie granulocítica en todas

sus etapas madurativas. Los granulocitos son preferentemente neutrófilos, entre los que abundan formas maduras y semimaduras, pero puede verse con frecuencia una eosinofilia marcada de formas intermedias a maduras (**Figuras 2 a 4**). En distintos enfermos puede variar el grado de maduración granulocítica y, por ende, la cantidad de células más inmaduras, de disposición normal, más frecuentemente en situación paratrabecular (localización normal de precursores inmaduros –LNPI–) (**Figura 4**). A veces

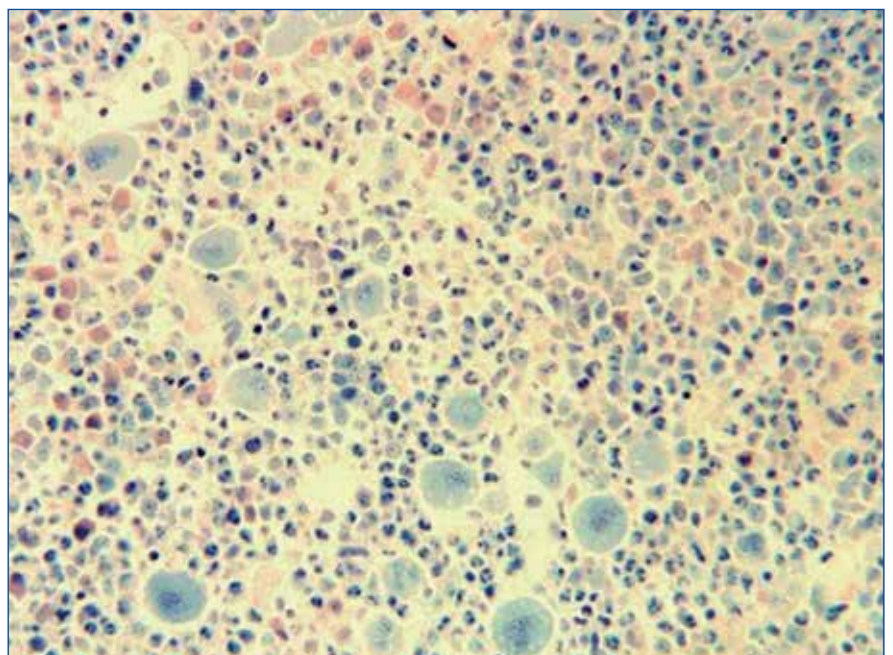


Figura 2. Leucemia mieloide crónica en fase crónica. Proliferación granulocítica y megacariocítica: ausencia casi total de serie eritroide. Megacariocitos característicos, pequeños, de núcleos redondos (Giemsa $\times 250$).

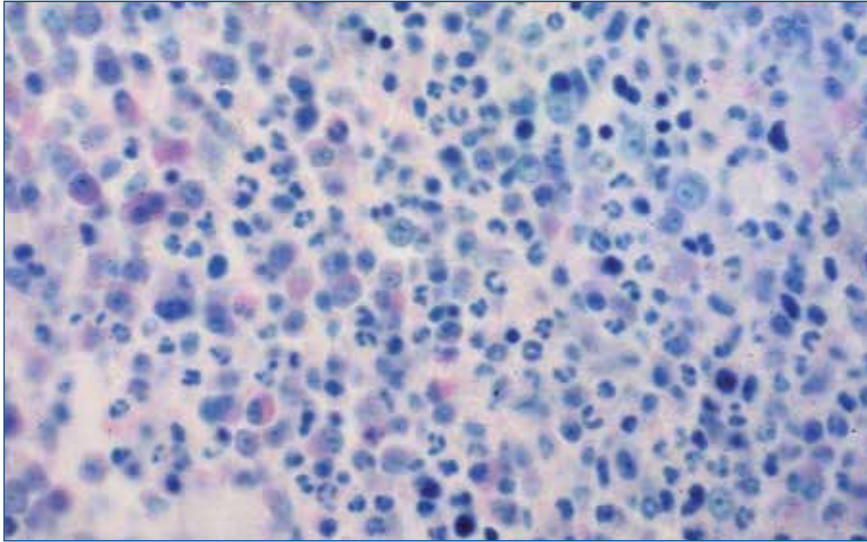


Figura 3. Leucemia mieloide crónica en fase crónica. Proliferación con maduración granulocítica (Giemsa × 400).

pueden verse agrupaciones de células inmaduras en localización centromedular (localización anormal de precursores inmaduros –LAPI–) sin que esté claro que tal hallazgo preludie la transformación leucémica (**Figura 5**). Un fenómeno inespecífico frecuente es la presencia de abundantes macrófagos que acumulan material de desecho y que pueden ofrecer en la tinción de Giemsa el típico aspecto de histiocitos azul marino (ejemplo del síndrome del histiocito azul marino secundario)⁽¹⁰⁾.

La tinción argéntica puede mostrar inicialmente fibrosis moderada (**Figura 6**), pero como en otras

NMP puede progresar hasta formas intensas, con fibrosis colágena e incluso osteosclerosis en la enfermedad cercana a la crisis blástica o en la fase de alarma, si esta tiene lugar⁽¹¹⁾. Las formas con proliferación megacariocítica destacada suelen coexistir con mayor fibrosis y deformación de estas células (**Figura 7**). La frecuencia de formas fibróticas iniciales es de alrededor del 20% de los casos⁽¹²⁾. Simultáneamente a una fibrosis progresiva, mediante inmunohistoquímica, puede apreciarse un aumento de precursores inmaduros o de células CD34+ que pueden anunciar una posible transformación aguda.

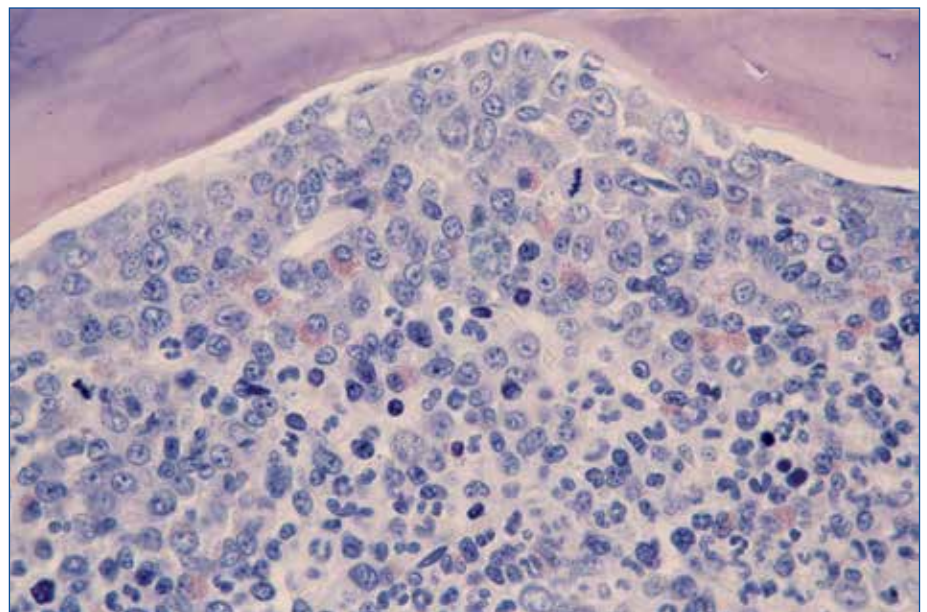


Figura 4. Leucemia mieloide crónica en fase crónica. Localización normal (paratrabecular) de precursores inmaduros, exaltada en la enfermedad (Giemsa × 400).

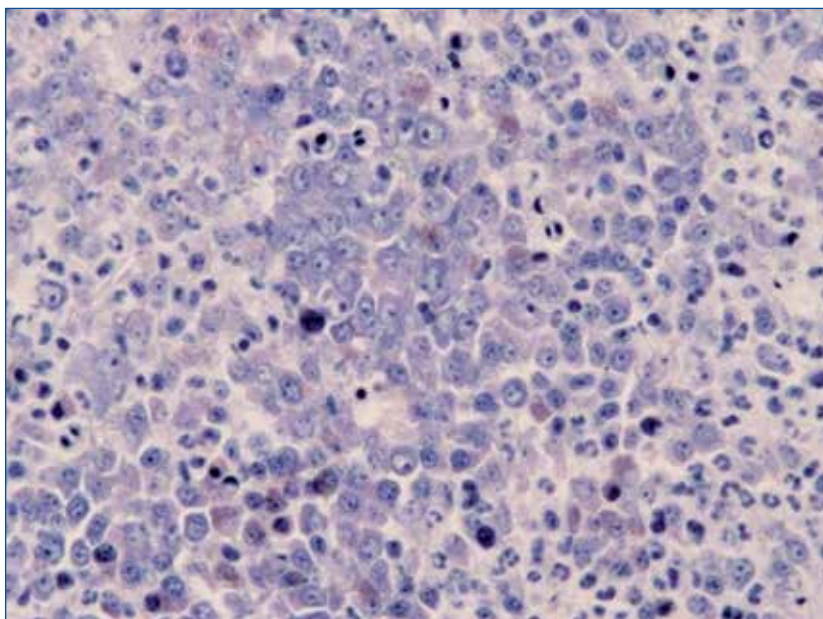


Figura 5. Leucemia mieloide crónica en fase acelerada: grupo de blastos en el centro de la preparación (Giemsa $\times 400$).

La microvasculatura, estudiada mediante inmunohistoquímica (CD34, CD31), se ha encontrado aumentada, como en las otras NMP, en menor grado que en la MFP⁽¹³⁾.

Se describen casos anecdóticos de coincidencia de una LMC con una leucemia linfática crónica (LLC), en cuyo caso esta última se presenta con infiltrados de linfocitos B maduros, generalmente focales, en el contexto de un cuadro histológico propio de la LMC (**Figura 8**). También se ha des-

crita la coexistencia de LMC y mastocitosis sistémica⁽¹⁴⁾.

2.2.2. Crisis blástica

Además de la posibilidad de los citados fenómenos de fibroesclerosis (que pueden faltar), se observarán alteraciones propias de una leucemia aguda; por tanto, invasión parcial o total por blastos (células

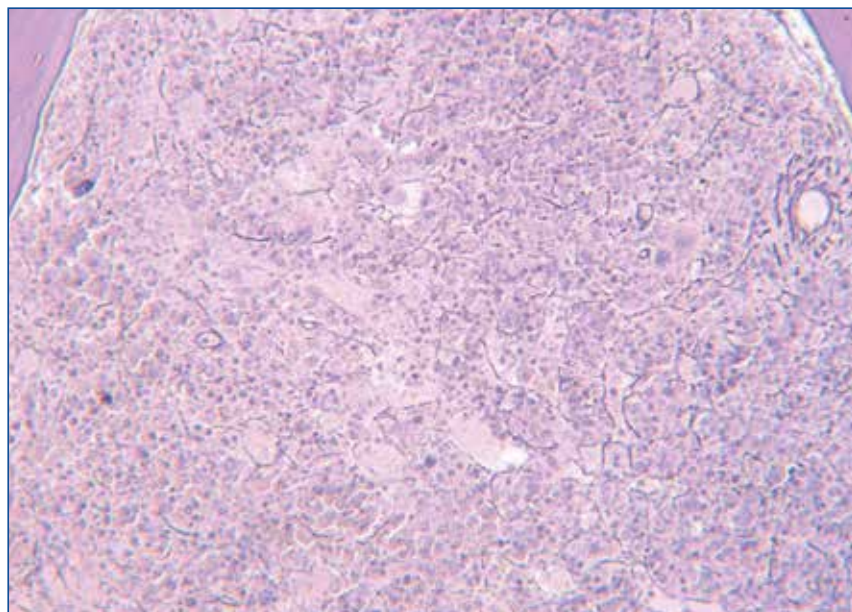


Figura 6. Leucemia mieloide crónica en fase crónica. Ligera fibrosis reticulínica (reticulina de Wilder $\times 250$).

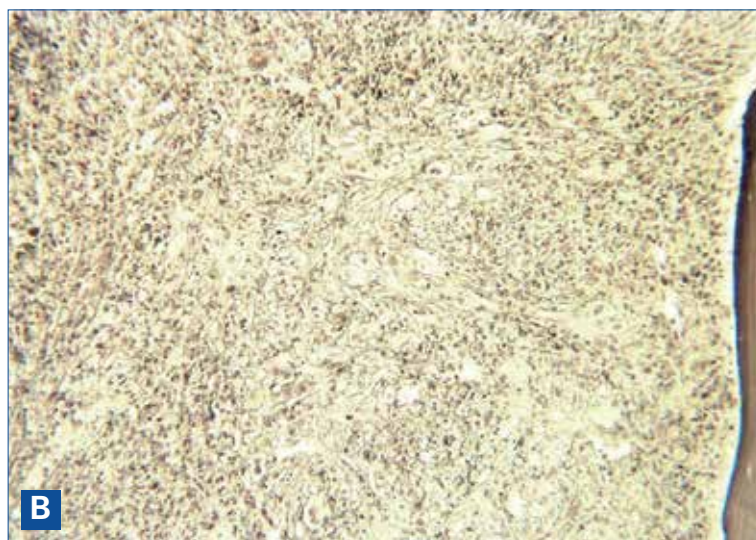
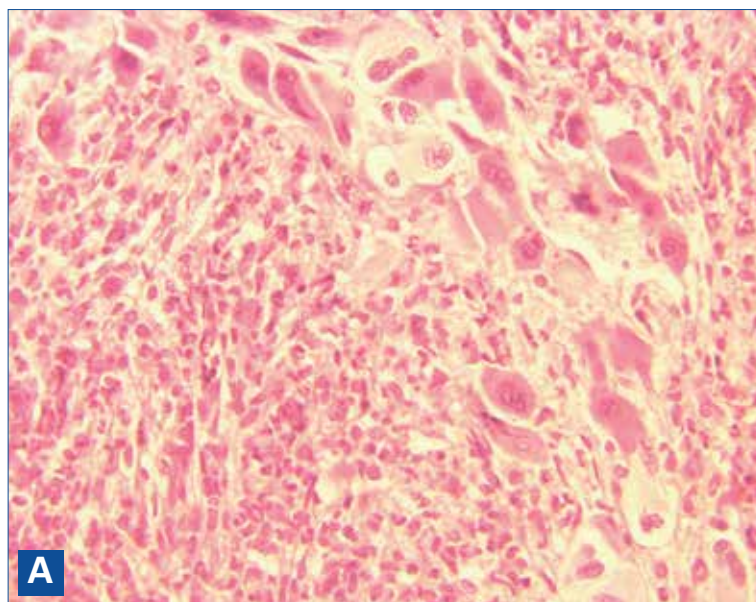


Figura 7. Leucemia mieloide crónica con abundantes megacariocitos deformados por fibrosis medular (A: HE $\times 250$; B: reticulina de Wilder $\times 100$).

CD34+), coexistiendo o no con cierto grado de maduración, residuo de la fase crónica. Hemos visto en un caso de crisis blástica eritroide un curioso patrón histológico de blastosis intrasinusal (**Figura 9**).

2.3. Valor pronóstico

En cuanto a la capacidad pronóstica de la biopsia medular en la LMC, Cervantes *et al.*⁽¹⁵⁾ en un análisis de

100 pacientes encontraron que una fibrosis reticulínica marcada y más de 15 megacariocitos/mm² se asociaban a un peor pronóstico; sin embargo, este último se perdía al incluir estos factores en un modelo multivariante que incluía el sistema pronóstico de Sokal, basado en datos clínicos y hematimétricos.

2.4. Biopsia de médula ósea en leucemia mieloide crónica tratada con inhibidores de tirosina cinasa

Varios estudios ponen de manifiesto cambios regresivos en las alteraciones de la médula ósea de pacientes con LMC tratados con imatinib, incluyendo la normalización de las formas anormales de megacariocitos típicas de la enfermedad y reducción o desaparición de la fibrosis si esta estuvo presente. Dichos cambios no siempre se acompañaron de desaparición de la clona *bcr-abl* +, lo que hace pensar en un componente de estímulo de la maduración celular con imatinib⁽¹⁶⁻¹⁹⁾. Una observación interesante relacionada con el tratamiento con inhibidores de tirosina cinasa consiste en una disminución significativa de mastocitos en la médula ósea de los pacientes tratados con estos fármacos⁽²⁰⁾. Este fenómeno, por el momento sin significado clínico, se ha podido también comprobar en animales de laboratorio. Al parecer, el

imatinib suprime también *in vitro* la producción de mastocitos.

2.5. Indicaciones: recomendación práctica

Recomendamos realizar BMO inicial en todos los casos de LMC y en el seguimiento solo ante cambios en el hemograma, genéticos o clínicos indicativos de progresión. En el caso de los pacientes tratados con trasplan-

te de progenitores hematopoyéticos (TPH), no está clara la indicación postrasplante. En la era del tratamiento con inhibidores de tirosina cinasa, se debe adquirir más experiencia en estudios controlados sobre los cambios que acompañan a la respuesta o remisión, pero no puede recomendarse la biopsia con fines puramente diagnósticos o de evaluación de aquellas, puesto que la genética y la citogenética son métodos más específicos.

3. Neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas

A partir de la clasificación de la OMS, la BMO es una importante herramienta diagnóstica en este grupo de 3 enfermedades (criterio mayor en las 3 entidades)⁽²⁾, que comparten diversos cambios patológicos, pero con diferencias (a veces sutiles) que pueden ser claves para el diagnóstico de cada una de ellas.

3.1. Policitemia vera

3.1.1. Concepto

La PV o enfermedad de Vaquez-Osler es una enfermedad mieloproliferativa crónica, por afección clonal de la célula madre pluripotencial, con producción excesiva de células de las 3 series sanguíneas (pancitosis) entre las que predomina la serie roja (eritrocitosis) y crecimiento independiente de los factores de regulación fisiológicos, cuya clínica se debe fundamentalmente a hiperviscosidad y metaplasia mieloide. Los fenómenos trombóticos, los signos neurológicos hipóxicos, la esplenomegalia y el prurito son los principales hechos clínicos. Tras una larga fase proliferativa, sucede una fase “gastada”, fibrótica, y existe posibilidad de transformación a leucemia aguda mieloblástica (LAM) en < 10% de los pacientes. Adecuadamente tratada no acorta la vida⁽²¹⁾. Actualmente, se

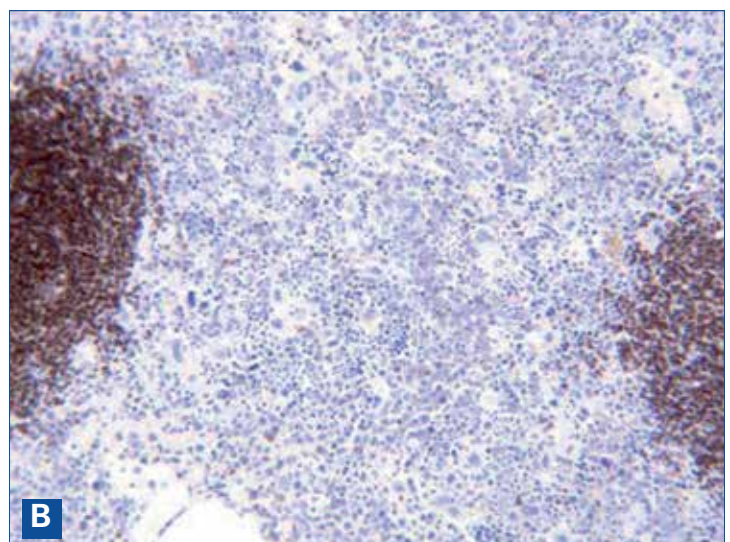
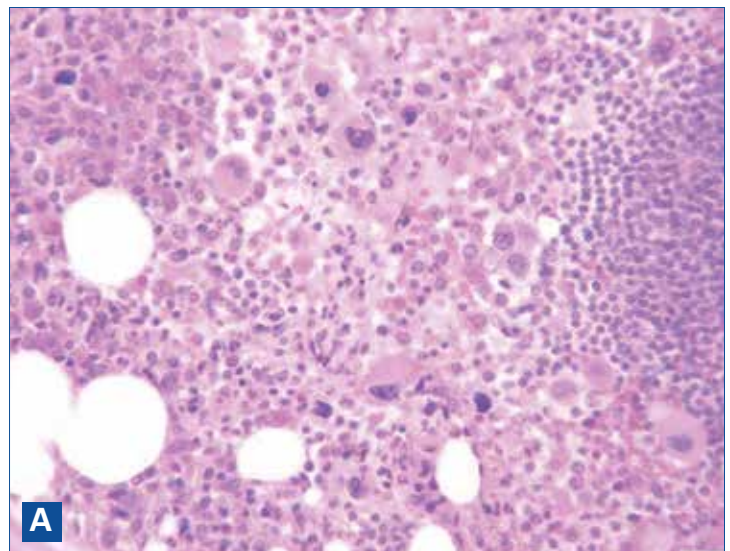
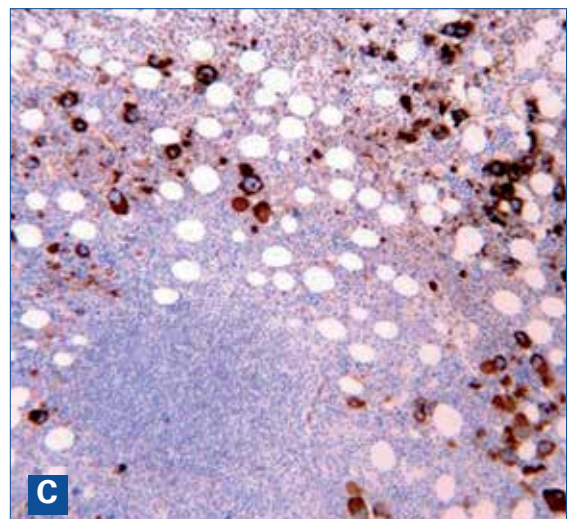


Figura 8. Rara coexistencia de leucemia mieloide crónica y leucemia linfática crónica con patrón nodular (A: HE $\times 100$; B: CD20 $\times 100$; C: megacariocitos destacados con CD31 $\times 100$).



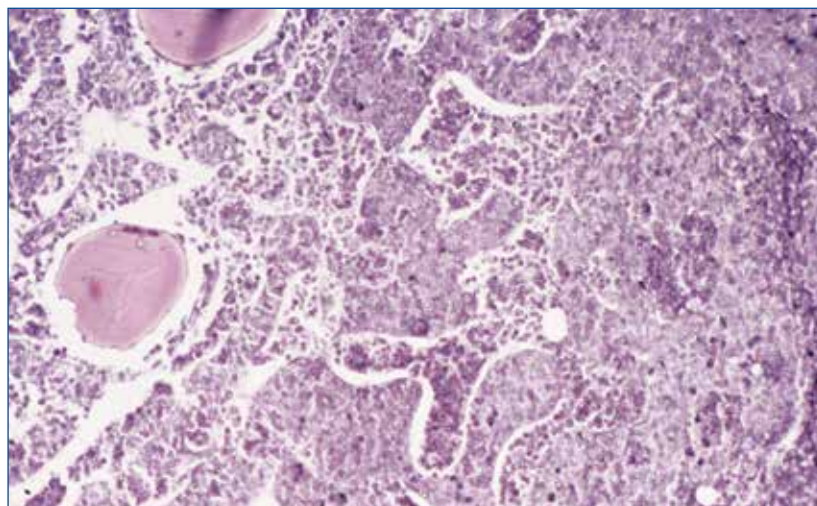


Figura 9. Leucemia mieloide crónica en crisis blástica eritroide. Repleción sinusoidal pseudotrabeccular (reticulina de Wilder $\times 250$).

considera que el crecimiento eritroide no dependiente de la eritropoyetina (EPO) y las demás citosis se originan a partir de la mutación (V617F) del gen *JAK2* (responsable de la transmisión de la señal proliferativa desde el receptor de la EPO –REPO–) que se ha encontrado en el 60 al 100% de los casos y en mayor proporción que en las otras 2 NMP Fi negativas⁽³⁻⁵⁾.

La clasificación de la OMS de 2008⁽¹⁾ por vez primera incluyó una BMO característica como un criterio menor de PV, lo que hizo a esta exploración imprescindible en algunos casos. La revisión de la clasificación en 2016⁽²⁾ eleva la categoría de la BMO a criterio mayor (criterio mayor 2 de 3) y modifica algunos aspectos de los demás criterios. No obstante, se matiza que una BMO no es necesaria en casos con eritrocitosis absoluta sostenida (hemoglobina –Hb– $> 18,5$ g/dL en varones o $> 16,5$ en mujeres) o si el criterio mayor 3 y los criterios menores están presentes. Asimismo, hace la observación de que la mielofibrosis inicial, presente en más de un 20% de los pacientes, solo puede ser detectada mediante la BMO y tal hallazgo puede predecir una progresión más rápida a mielofibrosis pospolicitémica (Tabla 3).

3.1.2. Principales cambios histopatológicos

3.1.2.1. Celularidad y parénquima hematopoyético

La PV es, junto a la MFP en fase celular, paradigma de panmielosis. La médula es siempre hiper-

plásica, con escasos o ningún adipocito, en lo que no difiere de la LMC y de la MFP. En un estudio del Polycythemia Vera Study Group (PVSG), la media de celularidad fue del 82% y fue normal solo en el 13% de los casos⁽²²⁾. Destaca la abundancia de serie roja, pero es también llamativa la hiperplasia megacariocitaria⁽²³⁾ (Figura 10 A y B). Los megacariocitos

Tabla 3. Criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016 de la policitemia vera (PV)⁽²⁾

Criterios mayores
1. Hemoglobina $> 16,5$ g/dL en varones y $> 16,0$ g/dL en mujeres o hematocrito $> 49\%$ en hombres y $> 48\%$ mujeres o masa eritrocitaria aumentada ^a
2. Biopsia de médula ósea (BMO) que muestra hiper celularidad para la edad con proliferación trilineal (panmielosis) incluyendo proliferación destacada de hematíes, granulocitos y megacariocitos, siendo estos pleomórficos y maduros, con diferentes tamaños ^b
3. Presencia de la mutación <i>JAK2</i> V617F o mutación de <i>JAK2</i> en el exón 12
Criterio menor
Niveles bajos de eritropoyetina
<i>El diagnóstico de PV requiere cumplir los 3 criterios mayores o los 2 primeros criterios mayores y 1 criterio menor</i>

^a Más del 25% sobre el valor normal; ^b el criterio 2 (BMO) puede no ser necesario en casos con eritrocitosis absoluta mantenida: niveles de hemoglobina $> 18,5$ g/dL en hombres (hematocrito 55,5%) o $> 16,5$ g/dL en mujeres (hematocrito 49,5%) en presencia del criterio mayor 3 y con los criterios menores presentes. Sin embargo, una mielofibrosis (MF) inicial (presente en más del 20% de los pacientes) solo puede ser detectada mediante BMO. Este hecho puede predecir una progresión más rápida a mielofibrosis patente (MF post-PV)

son más bien polimorfos, con formas grandes a gigantes y otras normales. La maduración nuclear de dichas células es normal y pueden presentar, de forma inespecífica y relacionada con la cuantía celular, aumento de emperipolesis (internalización de células en el citoplasma de los megacariocitos) (**Figura 11**). Tienden también a formar acúmulos, hecho este que puede considerarse propio de mieloproliferación patológica (**Figuras 12 y 13**). Autores del grupo germano-holandés^(1,23,24) han introducido la distinción entre acúmulos densos (como en empedrado) y laxos (**Figura 14**), discriminación esta que a veces puede ser difícil; los autores atribuyen la forma densa de acúmulos a la MFP, mientras que en la PV y la TE los acúmulos serían mayormente laxos. De confirmarse estos hechos en otras series, tal consideración sería de interés, especialmente para la identificación de las fases prefibrótica y fibrótica precoz de la MFP.

3.1.2.2. Estroma

Es frecuente encontrar aumento de luces vasculares, en el que puede haber un componente de neoangiogénesis, pero también de ectasia por plétora, lo que sería privativo de esta NMP, apareciendo a veces los sinusoides repletos de hematíes: hiperplasia y/o ectasia sinusoidal (HES), término poco comprometido, pero práctico, que hemos propuesto⁽²⁵⁾ (**Figuras 15 y 16**). La inmunohistoquímica para endotelios (CD34, CD31 y anti-factor VIII) ayuda significativamente a evaluar el nivel de angioproliferación. En nuestro referido estudio, previo a la eclosión de la teoría de la neoangiogénesis en oncohematología, ya pudimos observar que la HES era estadísticamente más frecuente en la PV que en las otras NMP Fi (–).

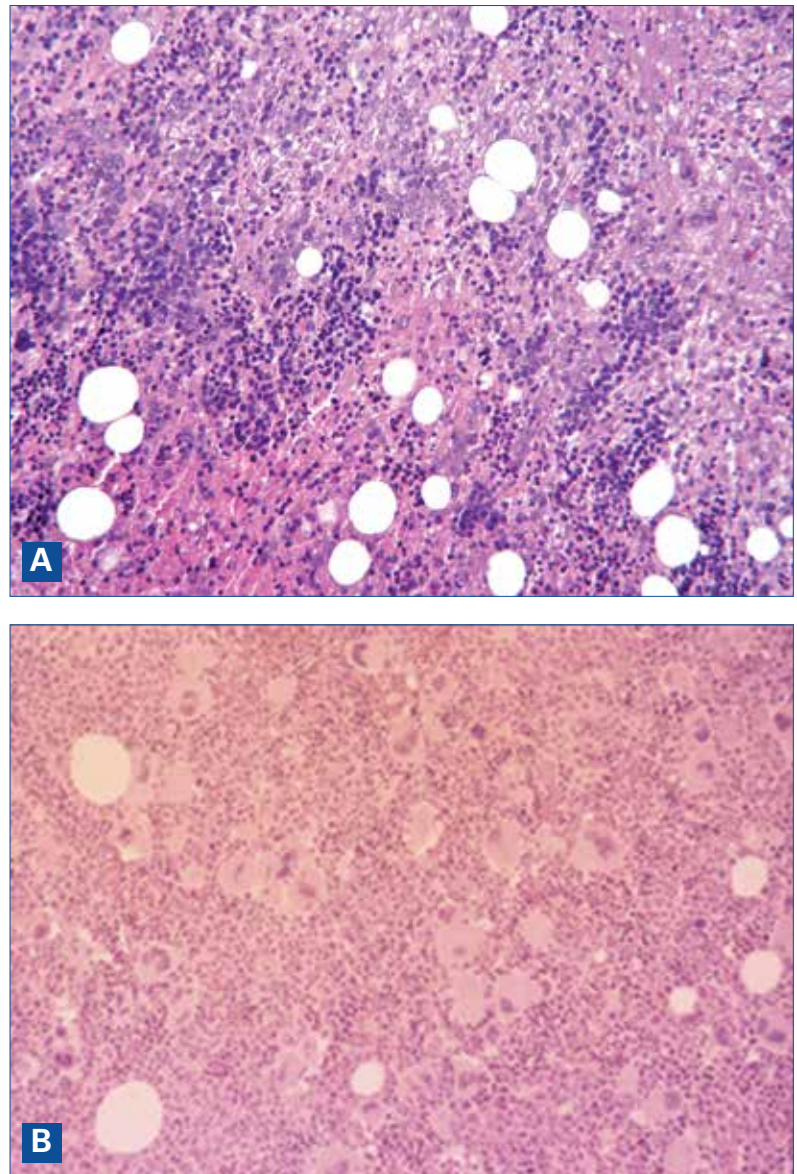


Figura 10. A: Policitemia vera. Médula hipercelular en la que destacan amplios islotes eritroblásticos (HE × 250); B: Policitemia vera. Panmielosis; muy escasa celularidad grasa. Proliferación megacariocítica, con formación de acúmulos (HE × 250).

La fibrosis reticulínica puede estar presente aproximadamente en un 15-20% de los casos al diagnóstico y suele ser moderada. En un estudio del grupo germano-holandés⁽¹⁹⁾ fue mínima en el 25% de los casos y moderada a intensa en el 11%. En un estudio mediante biopsias secuenciales en 275 pacientes, los autores encuentran fibrosis medular en el 57% de los casos; en la PV el porcentaje de médulas con fibrosis fue solo del 5% y, a lo largo de 2,9 años de obser-

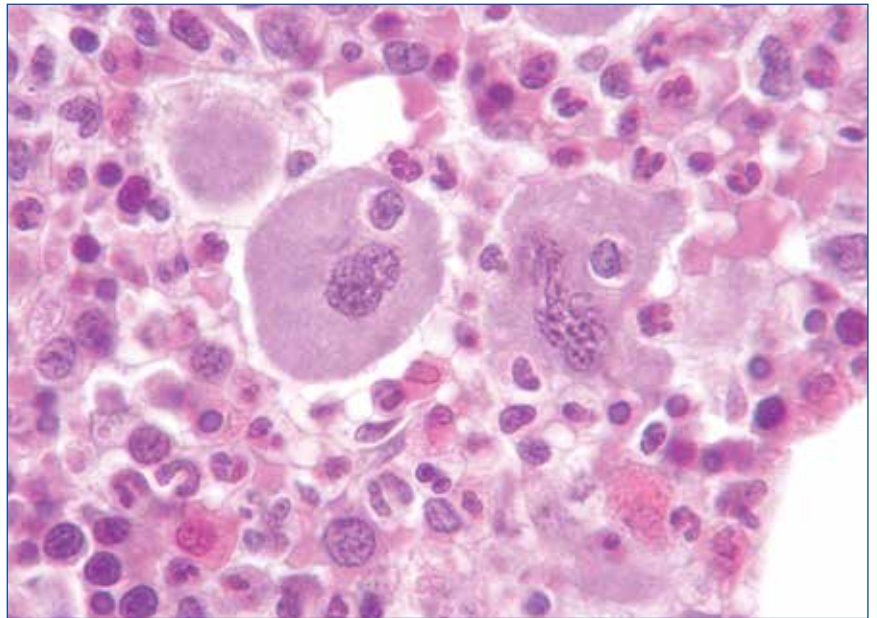


Figura 11. Policitemia vera.
Dos megacariocitos con emperipolesis
de linfocitos (HE \times 1.000).

vacación, solo el 5% de los pacientes desarrolló fibrosis⁽²²⁾ (**Figura 17**). En la transformación mielofibrótica franca (antiguamente denominada “fase gastada”), la fibrosis se hace intensa, colágena y progresiva, configurando la llamada mielofibrosis pospolicitémica. Es discutible si debe hablarse de transformación mielofibrótica, pues ello conllevaría el sentido de cambio a otra entidad dentro del grupo; en nuestra opinión, se trata más bien del agotamiento de la clona proliferativa, con fibrosis medular progresiva.

3.1.2.3. Otros datos

Como se ha comentado anteriormente, es característico de las eritrocitosis primarias y muy especialmente de la PV el consumo de hierro en el proceso de hipereritropoyesis. Ello conlleva una situación de depleción férrica, que se agrava en aquellos pacientes (la mayoría) tratados con flebotomías. Por tanto, el hierro medular será muy escaso o ausente, lo que constituye un dato diagnóstico relevante. Ello ocurrió

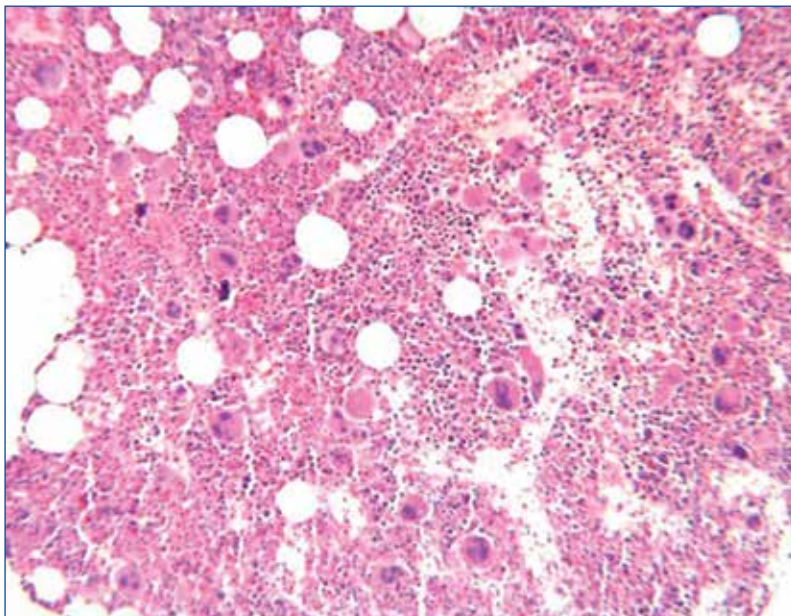


Figura 12. Policitemia vera. Panmielosis. Llamativa proliferación de eritroblastos y megacariocitos, de pequeños a gigantes, con tendencia a formar acúmulos hiperplasia/ectasia sinusoidal (HE \times 100).

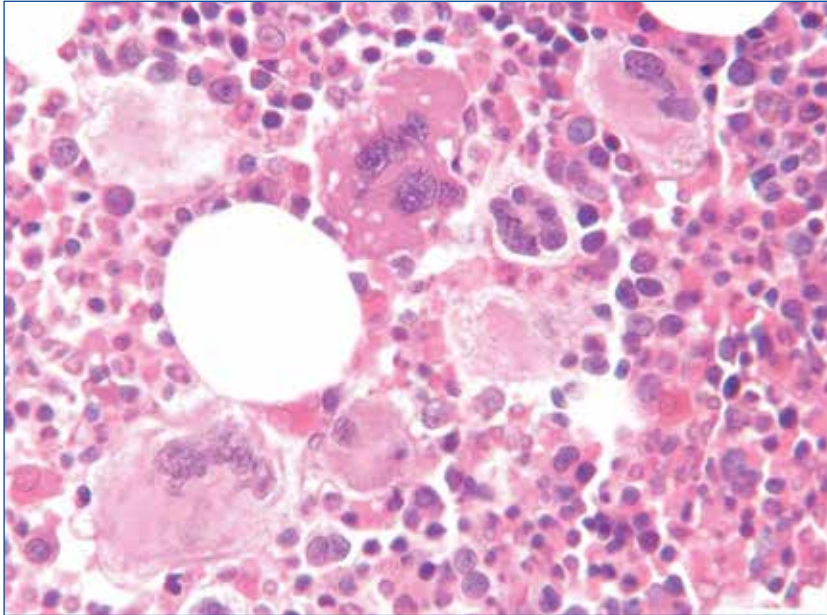


Figura 13. Policitemia vera. Acúmulo denso de megacariocitos de gran talla; acúmulos de plaquetas intrasinusoidales; abundantes eritroblastos (HE \times 1.000).

en el 93% de los pacientes del estudio del PVSG anteriormente mencionado. Ha de tenerse en cuenta que la técnica de Perls para la tinción histoquímica de hemosiderina es poco sensible en las muestras incluidas en parafina. En la fase gastada, por insuficiencia medular y tal vez por aporte con las transfusiones, puede recuperarse el hierro medular.

Pueden observarse LAPL en fases avanzadas o en la infrecuente transformación a leucemia agu-

da, pero no suele observarse en la fase proliferativa crónica; de hallarse, obligaría a descartar el posible inicio de la transformación leucémica.

Con respecto a la influencia del tratamiento en los cambios histopatológicos, se ha observado que la celularidad hematopoyética se reduce tras tratamiento con hidroxiurea y busulfán, mientras que el tratamiento con interferón haría disminuir el tamaño de los megacariocitos⁽²⁶⁾.

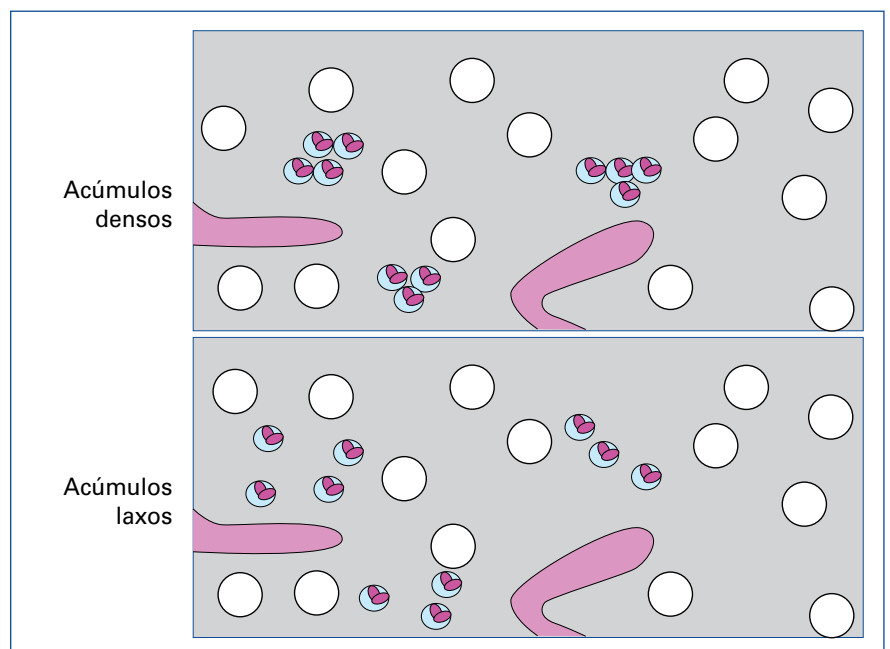


Figura 14. Esquema que representa 2 tipos de acúmulos megacariocíticos, densos y laxos, en la neoplasia mieloproliferativa.

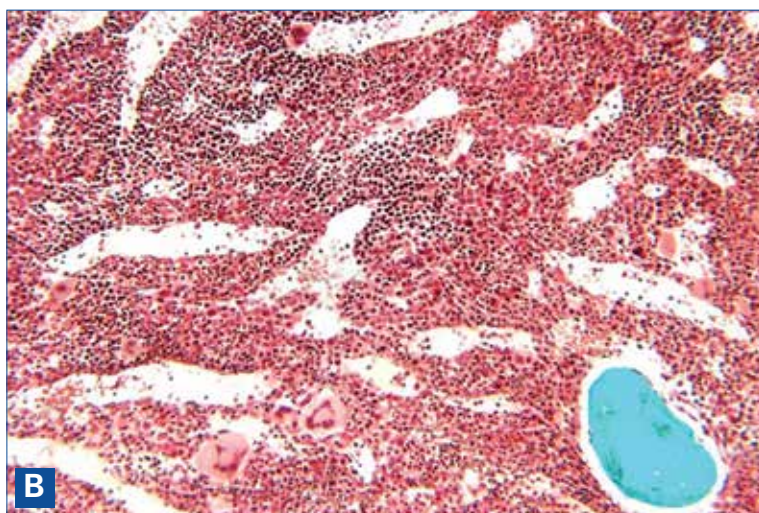
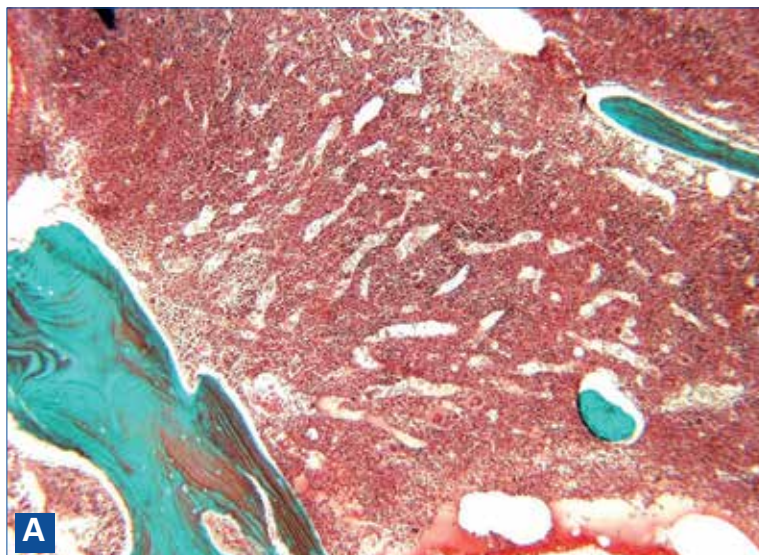


Figura 15. Policitemia vera. Neoangiogénesis: hiperplasia/ectasia sinusoidal (tricrómico de Masson; A $\times 100$; B $\times 250$).

3.1.3. Poder diagnóstico de la biopsia medular en la policitemia vera

Los datos hasta aquí señalados son muy característicos y permiten distinguir habitualmente bien una BMO de PV de las de otras NMP. En la fase celular de la MFP no suele haber tanta serie roja y los megacariocitos son más displásicos y aberrantes (véase el apartado correspondiente). En la LMC llama la atención la hiperplasia granulocítica netamente predominante, con muy escasa representación de la serie roja. Los megacariocitos pueden ser de normales a muy aumen-

tados, pero generalmente son pequeños y de núcleo hipolobulado o redondeado. En la TE, destaca la ausencia de hiperplasia global o en todo caso su carácter moderado, y la normalidad cuantitativa de las series roja y granulocítica.

3.1.4. La biopsia de médula ósea en el proceso diagnóstico de las eritrocitosis secundarias (ES)

Se han señalado (y ciertamente existen) una serie de diferencias notables entre estas dos situaciones eritrocíticas. Así, en las ES es solo la serie roja la hiperplásica, los megacariocitos son normales, no aparecen agrupaciones, no tiene por qué haber fibrosis, aunque sí ectasia sinusal debida a plétora; la posible depleción de hierro no es tan intensa como en la PV. Algunos autores han señalado como propio de las ES un componente de mielitis intersticial o mielopatía inespecífica con abundancia de células plasmáticas, eosinófilos, etc., cuyo origen no queda claro⁽²⁴⁾. La PV suele tener manifestaciones hematológicas y clínicas suficientes para pensar en una probable enfermedad mieloproliferativa y es con otras entidades de este grupo de enfermedades y no con las eritrocitosis aisladas y secundarias, con las que se plantea el diagnóstico diferencial más a menudo. En nuestra opinión,

la BMO no ocupa un papel en el diagnóstico de las ES, salvo cuando exista clara sospecha de PV por razones hematológicas (afección de más de una serie, existencia de una mutación de *JAK2* o un cultivo con crecimiento espontáneo de colonias eritroides).

3.1.5. Recomendaciones prácticas para la indicación de biopsia de médula ósea

Una BMO es obligada ante la sospecha fundada de PV. Una biopsia característica es el criterio mayor 2

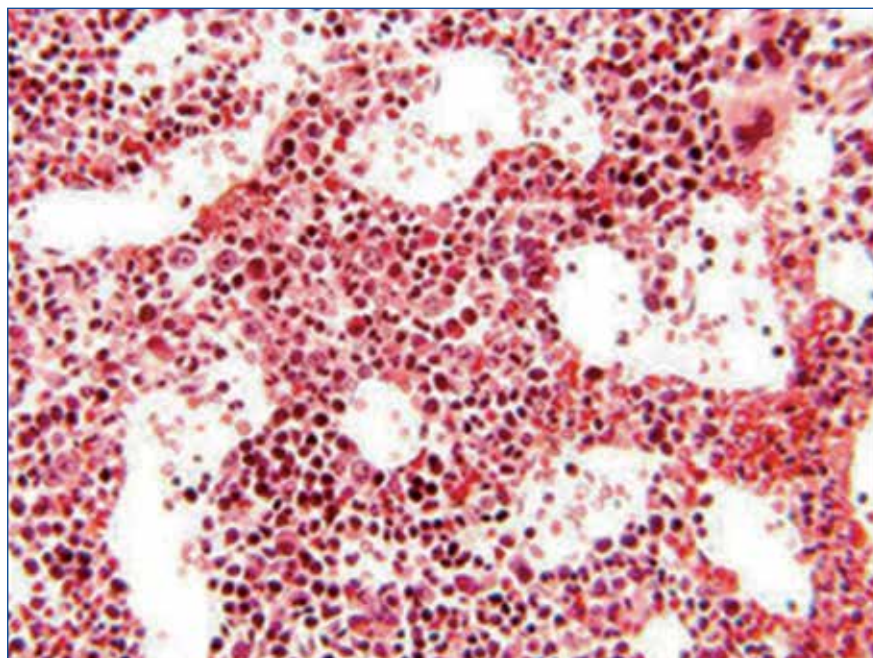


Figura 16. Policitemia vera. Destacada proliferación eritroide. Hiperplasia/ectasia sinusoidal (tricrómico de Masson $\times 400$).

entre los de la clasificación de la OMS de 2016. No es necesaria en principio en el proceso diagnóstico de las ES, salvo dudas razonables de que pudiera tratarse de una PV. En esta es muy recomendable contar con una tinción de hierro, cuya escasez o ausencia es característica. La biopsia en pacientes con PV debería repetirse en nuestra opinión aproximadamente cada 4 o 5 años para la valoración de la posible fibrosis o blastosis (LAPI o aumento de células CD34 positivas).

3.2. Trombocitemia esencial

3.2.1. Concepto

Enfermedad mieloproliferativa crónica, de carácter clonal, con proliferación excesiva e hiperdiploidía de los megacariocitos, independiente de la trombopoyetina, que da lugar a trombocitosis, con plaquetas a menudo disfuncionales y cuya clínica

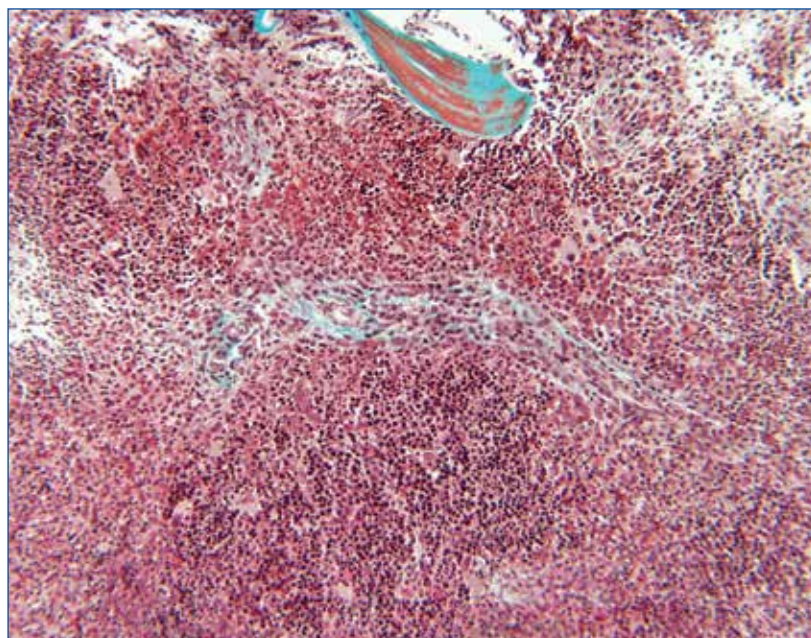


Figura 17. Policitemia vera en transformación mielofibrótica. Panmielosis; el tricrómico revela la fibrosis colágena incipiente (Masson $\times 250$).

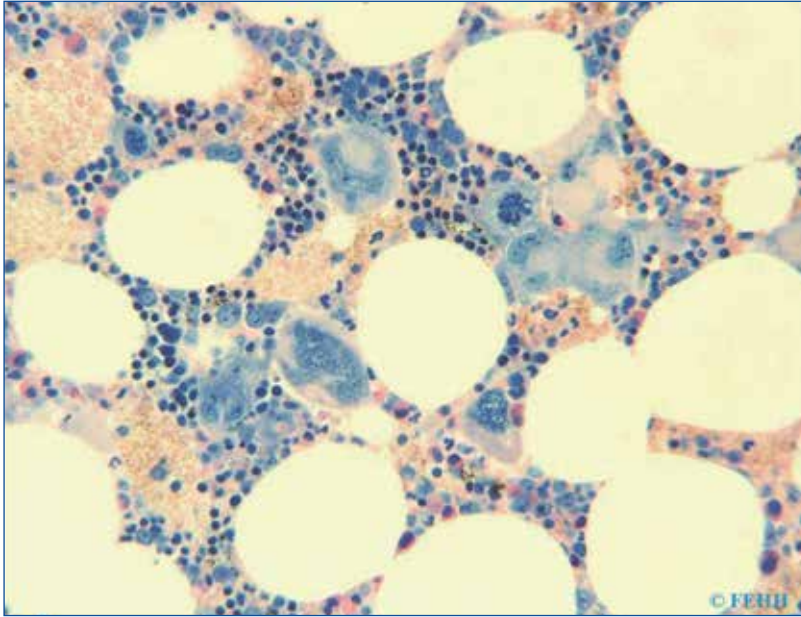


Figura 18. Trombocitemia esencial. Relación celularidad/grasa normal. Proliferación de megacariocitos medianos a grandes, maduros y polilobulados, uno de ellos en mitosis, formando acúmulos densos (Giemsa $\times 400$).

—cuando existe— se compone fundamentalmente de trombosis y hemorragias (de donde surge su otro nombre: trombocitemia hemorrágica). La transformación a LAM ocurre en $< 10\%$ de los pacientes. Adecuadamente tratada no acorta la vida. Su prevalencia va en aumento desde la inclusión del recuento de plaquetas en la hematimetría automática⁽²⁷⁾.

3.2.2. Principales hallazgos histopatológicos

3.2.2.1. Celularidad y parénquima hematopoyético

A diferencia de la PV y de la mielofibrosis, la TE es una NMP normocelular (o moderadamente hipercelular y más raramente hipocelular), con las series roja y granulocítica normales o muy discretamente

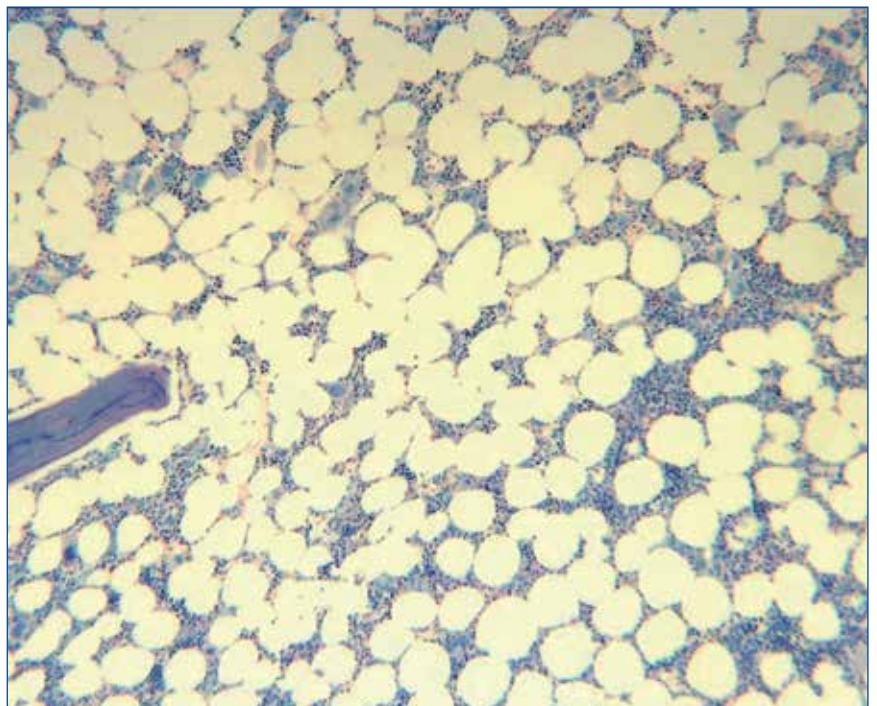
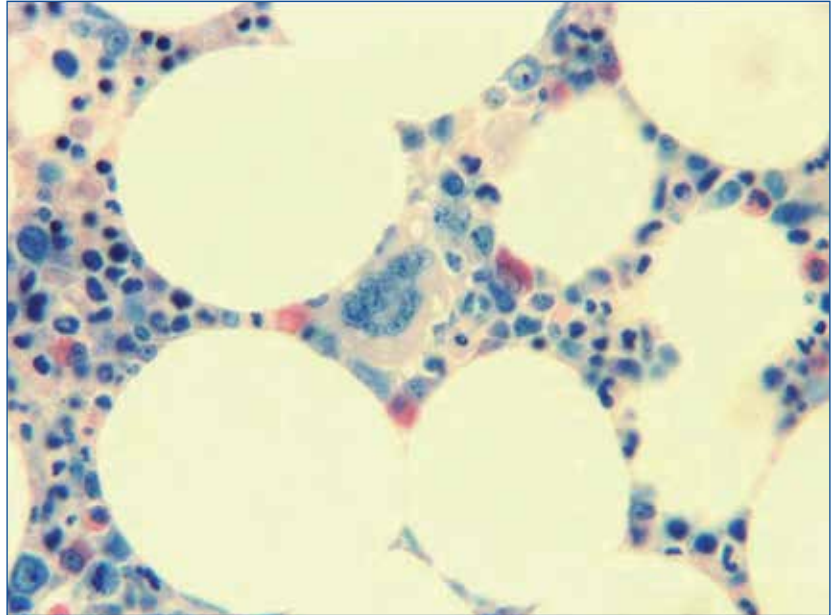


Figura 19. Trombocitemia esencial. Relación celularidad/grasa disminuida, con proliferación de megacariocitos formando acúmulos (Giemsa $\times 100$).

Figura 20. Trombocitemia esencial.
Relación celularidad/grasa normal
o ligeramente disminuida.
Megacariocito grande y
con núcleo característicamente
muy maduro (Giemsa $\times 400$).



hiperplásicas (**Figuras 18 y 19**). Puede decirse que es la menos panmielósica de las NMP, lo que debe ser tenido en cuenta, ya que por lo general esperaríamos que las 4 entidades (como panmielopatías proliferativas que son) presentaran una médula hiper celular.

La hiperplasia megacariocítica es muy llamativa, con células grandes a gigantes y con núcleos muy lobulados (lobulación por la que se han comparado a “astas de alce”) (**Figura 20**), algunas intrasinusoidales, tendencia a formar acúmulos, posibilidad in-

frecuente de distopia (disposición subtrabecular en vez de centromedular) y aumento de emperipolesis (**Figura 21**). Otras publicaciones del grupo germano-holandés señalan los acúmulos laxos como característicos de la TE, mientras que los densos serían más propios de la PV y de la MFP^(24,28,29).

En la TE no es frecuente la fibrosis inicial. Su rara aparición o su detección en el curso evolutivo deben hacer pensar que el diagnóstico original debió de ser una posible fase prefibrótica de la MFP (véase más adelante) . En el estudio de Kreft *et al.*⁽³⁰⁾,

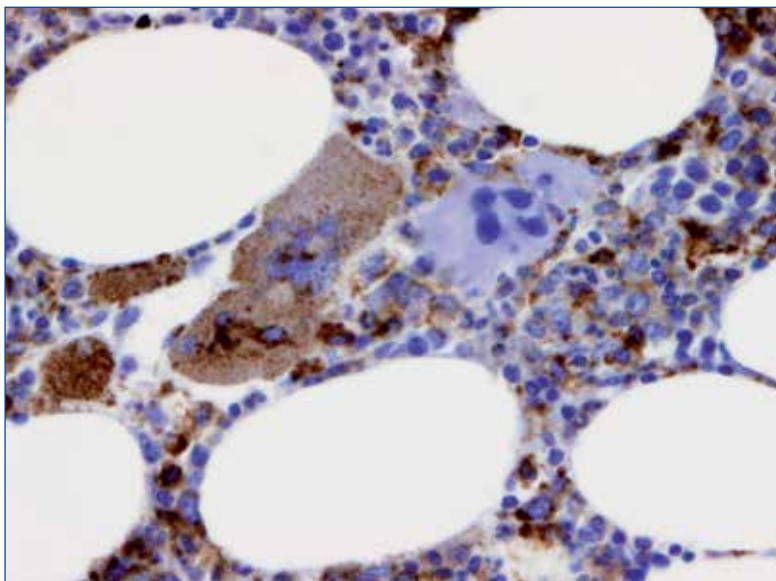


Figura 21. Trombocitemia esencial (C-Mpl $\times 400$).
Se observan 3 megacariocitos, 1 negativo para c-Mpl
(grado 0) y los otros 2 con tinción débil (grado 1-2).
Imagen del Prof. S. Serrano.

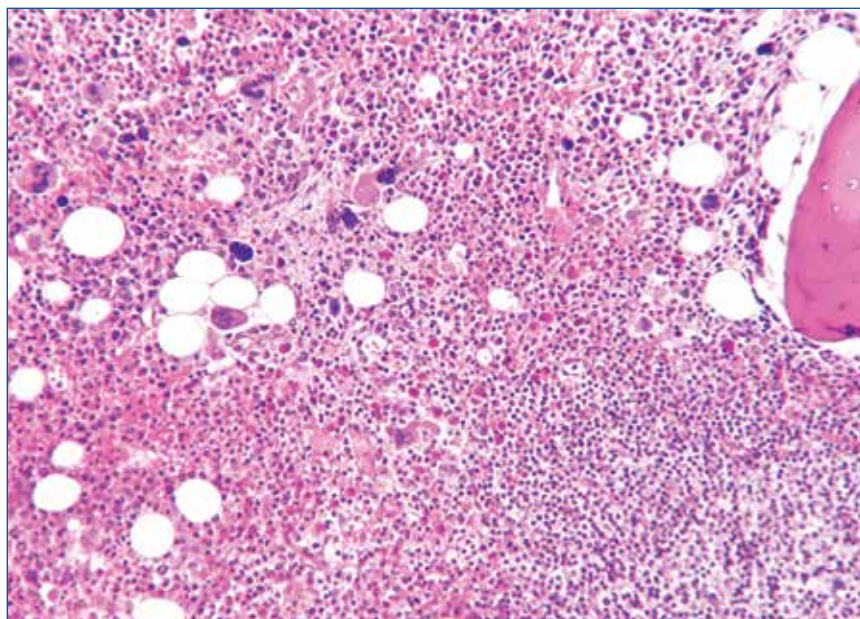


Figura 22. Mielofibrosis primaria en fase celular: proliferación panmieloide con numerosos megacariocitos y un agregado linfoide centromedular (HE \times 250).

ninguno de 66 pacientes presentó fibrosis y solo se vio en un paciente tras 2,9 años de observación. Se aprecia neoangiogénesis o HES (véase antes), aunque no se suelen observar los sinusoides repletos más propios de la PV. No es infrecuente ver acúmulos intravasculares de plaquetas.

Tabla 4. Criterios diagnósticos de la Organización Mundial de la Salud (OMS) 2016 de trombocitemia esencial (TE)

Criterios mayores

1. Recuento de plaquetas $\geq 450 \times 10^9/L$
2. Biopsia de médula ósea (BMO) con proliferación principalmente de la línea megacariocítica, con aumento del número de megacariocitos grandes con núcleos hiperlobulados; no incremento significativo de desviación a la izquierda de la granulopoyesis neutrófila o la eritropoyesis, y muy raramente aumento de fibras reticulínicas (grado 1)
3. No reunir criterios OMS de leucemia mieloide crónica (LMC) *Bcr-Abl1*, policitemia vera (PV), mielofibrosis primaria (MFP), síndromes mielodisplásicos u otras neoplasias mieloides

4. Presencia de mutación de *JAK2*, *CALR* o *MPL*

Criterio menor

1. Presencia de un marcador clonal o no evidencia de trombocitos secundaria

El diagnóstico de TE requiere reunir los 4 criterios mayores o 3 mayores y el criterio menor

3.2.2.2. Otros hallazgos

Se ha prestado atención a la tinción inmunohistoquímica del receptor de la trombopoyetina c-Mpl en la TE (Figura 22) y en el resto de NMP. Este regulador de la producción de plaquetas se expresa en el citoplasma de los megacariocitos, las plaquetas y los eritroblastos. Un estudio señala que el receptor se expresa más en los megacariocitos de la MFP y la PV que en los de la TE, la LMC y controles^(31,32). En la actualidad se dispone de anticuerpos monoclonales anti-*CALR* que pueden ser usados en inmunohistoquímica con éxito (100% de correlación con los métodos moleculares) y se consideran específicos, sensibles, rápidos y de bajo coste⁽³³⁾.

3.2.3. Poder diagnóstico de la biopsia medular en la trombocitemia esencial

La clasificación de NMP de la OMS de 2016, modificación de la de 2008⁽²⁾, incorpora las siguientes novedades para la TE: en el criterio 1, relativo a la BMO, matiza que los megacariocitos deben tener núcleos hiperlobulados e incluye la posibilidad de que haya un leve incremento de fibras de reticulina (Tabla 4) y, en el criterio 3, relativo a clonalidad,

contempla además de la de *JAK2*, las mutaciones de *CALR* y *MPL*.

Por tanto, podemos decir con rotundidad que la BMO es hoy por hoy imprescindible para el diagnóstico de esta enfermedad, aunque también hay que saber que por sí sola no la diagnostica. Como en el caso de la PV y otras eritrocitosis, no se plantea en la TE su diagnóstico diferencial con las trombocitosis secundarias mediante BMO y la indicación de la misma solo procede una vez que, mediante anamnesis y un panel básico de exploraciones complementarias, se hayan descartado las principales causas de trombocitosis secundaria. La inclusión de la BMO en una fase precoz del diagnóstico de una trombocitosis es un trauma evitable.

3.2.4. Cambios en la biopsia medular inducidos por la terapéutica de la trombocitemia esencial

Se dispone de un análisis del devenir de las BMO de 15 pacientes tras 25 meses de tratamiento con anagrelida, un derivado imidazolinico (no citotóxico, a diferencia de la hidroxiurea o los alquilantes) que actúa exclusivamente sobre la producción plaquetaria por los megacariocitos, frecuentemente usado en esta enfermedad. Los autores encontraron una limitación de la endorreduplicación nuclear en los megacariocitos y, como consecuencia, una disminución de su ploidía, además de una tendencia a la desviación a la izquierda (más megacarioblastos). Sin embargo, no han encontrado más angiogénesis, aunque sí más distensión vascular relacionable con el efecto vasodilatador que también posee la anagrelida; no se observó progresión de la fibrosis, ni aumento de las células CD34+⁽³⁴⁾.

El estudio inglés conocido como *PT-1 (Primary Thrombocythemia-1)*, un ensayo aleatorizado de uso de anagrelida frente a hidroxiurea en la citorreducción de pacientes con TE⁽³⁵⁾, ha encontrado un predominio estadísticamente significativo de transformaciones mielofibróticas en el brazo con anagrelida. Sin embargo, este resultado ha sido muy debatido, debido a problemas en el diseño del estudio en lo relativo a las BMO.

3.2.5. Recomendaciones prácticas para la indicación de biopsia de médula ósea

Con los criterios actuales, la BMO es imprescindible en el diagnóstico de la TE. Proporciona los criterios 2 y 3 de la OMS. No es necesario hacer BMO en el proceso diagnóstico de una trombocitosis posiblemente secundaria. La BMO, sin embargo, ocupa un papel primordial una vez agotadas las exploraciones conducentes a la búsqueda de una posible causa, ya que entonces su teórica naturaleza primaria puede ser ratificada por una biopsia compatible. En el seguimiento de una enfermedad como la TE, frecuente en jóvenes y con una larga supervivencia, no parece necesario prodigar biopsias. Proponemos hacerla, si acaso, cada 5 años, para valorar la eventualidad infrecuente de aparición de mielofibrosis (excluidos aquellos casos con un diagnóstico inicial erróneo, tratándose quizás de una fase prefibrótica de MFP).

3.3. Mielofibrosis primaria

3.3.1. Nombre y concepto

La enfermedad que nos ocupa se ha caracterizado, como pocas, por haber contado con nombres muy diversos, a partir de su primera descripción: esplenomegalia megacariocítica, metaplasia mieloi-de agnogénica, osteomiolorreticulosis, osteomielifibrosis, mielofibrosis idiopática, esplenomegalia mieloi-de en Francia, mielofibrosis con metaplasia mieloi-de y, finalmente, a partir de la clasificación de la OMS de 2008, MFP. Este último nombre probablemente no será el último, puesto que su enunciado dice bastante poco de lo que la enfermedad es en realidad. Esta multiplicidad de nombres en los últimos 50 años es consecuencia del gran desconocimiento patogénico y fisiopatológico que se ha tenido de la enfermedad.

Para abordar las principales manifestaciones morfológicas de la MFP debemos recordar sucintamente que se trata de una panmielopatía clonal, *bcr-abl*/Fi (-), *JAK2* positiva en un 50% y *CALR* o *MPL* positiva en el resto, en la que básicamente

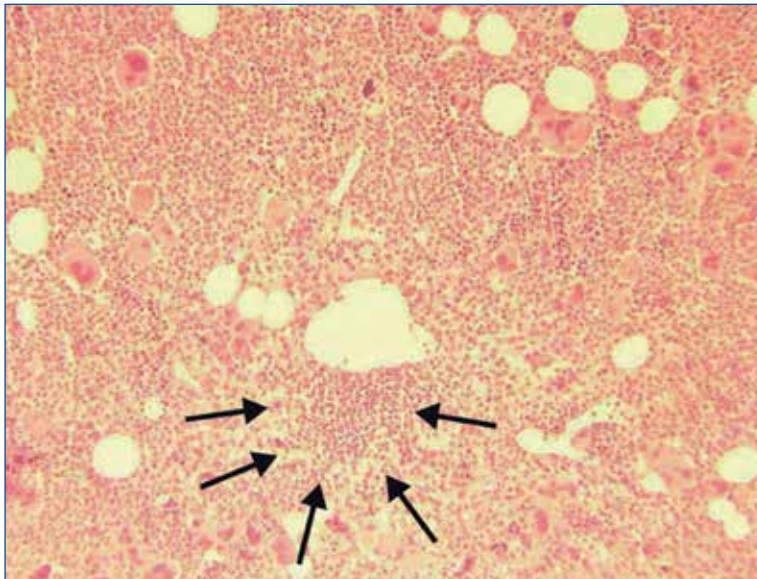


Figura 23. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase celular (MF-C, Lennert; fase prefibrótica, Thiele). Proliferación panmieloide, numerosos megacariocitos con tendencia a la agrupación, un pequeño agregado linfóide parasinusoidal (flechas) (HE \times 100).

existe una proliferación de megacariocitos, aunque no exclusiva, cuyo defecto intrínseco y aborto intramedular conducen a la liberación de múltiples citocinas, de acción angiogénica, fibrogénica y osteogénica. A ello se añade una importante metaplasia mieloide en el bazo y el hígado. Tras una fase inicial más o menos larga de hiperplasia hematopoyética, sucede una fibrosis progresiva, finalmente con osteosclerosis e insuficiencia hematopoyética terminal. Existen además fenómenos hiperinmunes o autoinmunes de difícil comprensión o encaje patogenético⁽³⁶⁾.

3.3.2. Principales cambios histopatológicos

Inicialmente, la médula es hipercelular, panmielósica, con poca o nula grasa, pudiendo no existir refuerzo de fibras, tratándose de una fase puramente hiperplásica o celular (**Figuras 22 y 23**). En la proliferación destacan los megacariocitos, con formas a menudo displásicas, de tamaño mediano a gigante, con defectos de maduración nuclear (núcleo poco lobulado, bulboso o “en nube” en contraposición a los núcleos hiperlobulados o en asta de alce de la TE) y frecuencia de núcleos desnudos de megaca-

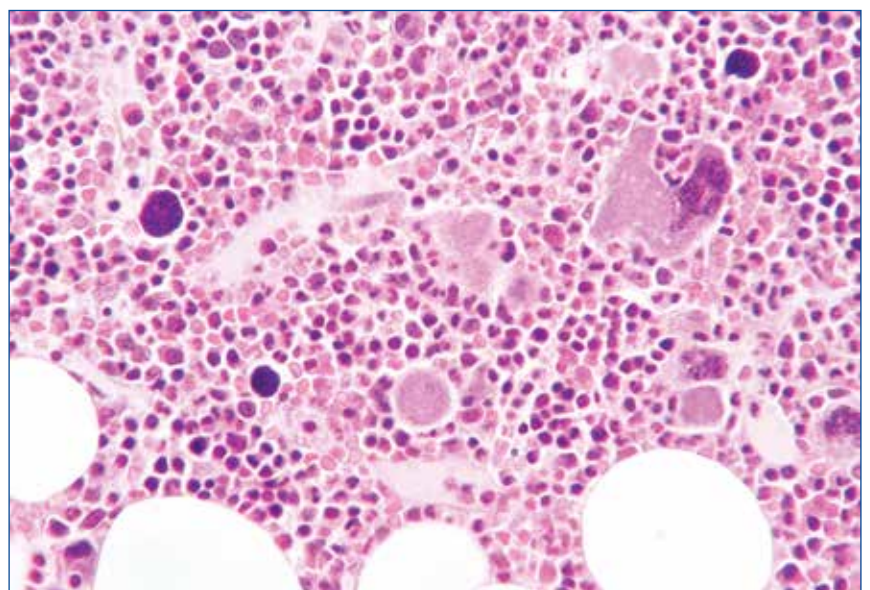
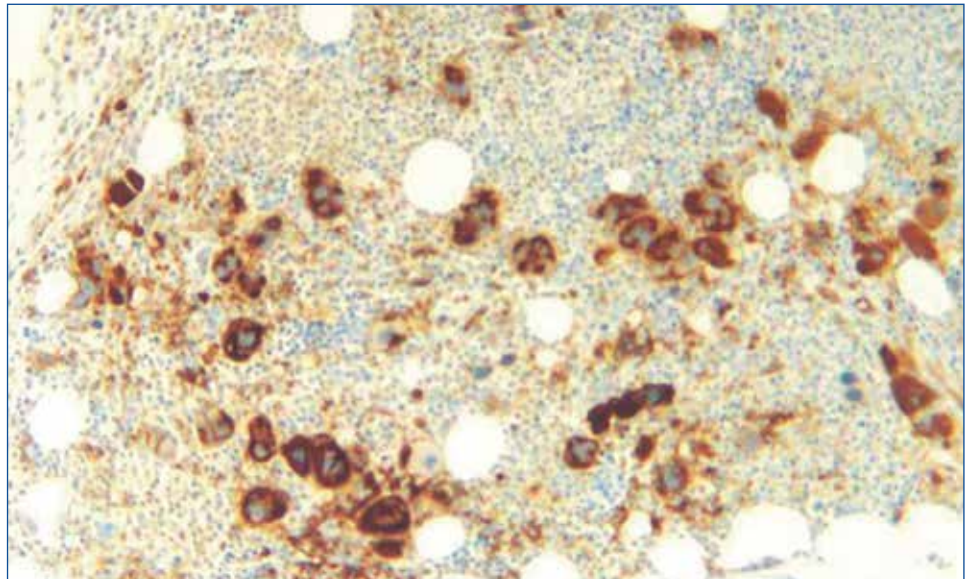


Figura 24. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Presencia de 3 núcleos “desnudos” de megacariocitos (HE \times 400).

Figura 25. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Gran proliferación de megacariocitos con tendencia a formar acúmulos (CD34 × 60).



riocitos (**Figura 24**); es frecuente su presentación en acúmulos densos. Tal proliferación megacariocítica es realizada por tinciones inmunohistoquímicas como CD31 o anti-factor VIII (**Figuras 25 y 26**). Las otras 2 series forman parte de la panmielosis, siendo la menos proliferativa la eritroide. Cuando hay algo de fibrosis, en hematoxilina-eosina (HE) puede aparecer un característico aspecto de las células como “encarriladas” o “peinadas” que sugiere su presencia (**Figura 27**); esta se confirmará por la tinción argéntica para fibras de reticulina, que en etapas precoces se percibirá solo como un discreto refuerzo de fibras (**Figura 28**). Progresivamente, se hace más aparente y puede tomar el aspecto de remolinos o bandas fibrosas (**Figura 29**), conservándose aún la panmielosis. En una fase más avanzada, aumenta la fibrosis y la médula va haciéndose hipocelular, de manera que en la tinción convencional de HE o Giemsa parece estar constituida solo por una amplia cicatriz fibrosa (**Figuras 30 a 34**). Comienza a ser visible la llamada fibrosis colágena (tinción tricrómica de Masson o Van Gieson positiva) (**Figuras 35 y 36**), al tiempo que, por último y combinándose con la fibrosis, se añadirán lesiones osteoscleróticas, que podemos identificar por el abigarramiento y mayor grosor de la trabéculas, actividad del endostio, aparición de osteoblastos en forma cúbica (en vez de aplanados) y presencia de amplio ribete osteoide en secciones no del todo decalcificadas, que

indican aposición ósea reciente (**Figuras 32 a 37**). Aun cuando estos cambios histopatológicos suelen seguir esta secuencia temporal, ello no siempre es claro, dándose formas relativamente precoces desde un punto de vista clínico, con cuadros histológicos más avanzados. Así Kreft *et al.*⁽³⁰⁾ encontraron fibrosis inicial en el 42% de 136 casos de MFP.

Tanto en sus formas iniciales como en las más avanzadas, puede constatararse la alteración de la microvasculatura, especialmente su incremento, debido a la ya citada neoangiogénesis, fenómeno relevante en la patogenia de la enfermedad. La mayoría de los autores se refieren a la valoración de la neoangiogénesis con el término densidad de microvasculatura (DMV). Esta se objetiva con mayor claridad mediante marcadores inmunohistoquímicos para endotelio vascular (véase el capítulo 4) (**Figura 38**). En un estudio piloto comparativo de nuestro grupo en varias NMP Fi (–), pudimos comprobar HES más frecuentemente en la PV que en las otras NMP⁽²⁵⁾. En otro estudio que utilizó inmunohistoquímica con CD34 en varios procesos crónicos, fue en la MFP donde se encontró el mayor incremento de luces vasculares; dicho incremento tuvo relación con los datos clínicos, de laboratorio, histológicos y con el pronóstico de la enfermedad⁽¹³⁾. Como es sabido, existen ensayos terapéuticos con fármacos antiangiogénicos en la MFP, aunque los datos por el momento son poco alentadores⁽³⁷⁾. Una interesan-

3.3.3. Formas histopatológicas de la mielofibrosis primaria

El espectro de cuadros histopatológicos posibles en la enfermedad viene dado por la concurrencia variable de alguno de los rasgos antes citados en función principalmente del tiempo y la evolución. De acuerdo con ello, pueden distinguirse fases o formas histopatológicas.

Uno de los tópicos clásicos y a la vez actuales más relevantes en este campo es la eventual distinción de una fase prefibrótica y una fibrótica, defendida principalmente por Thiele y el grupo germano-holandés, lo que ya quedó plasmado en la clasificación de la OMS de 2001⁽⁴⁰⁾ y que se incorpora a los criterios diagnósticos de la MFP en su revisión de 2016⁽²⁾ (**Tabla 5**). Es evidente que la etiqueta de “fase prefibrótica” es arriesgada, dado que, aun aceptando su existencia, en muchos casos nunca aparecerá la mielofibrosis que debería confirmar tal diagnóstico. La idea de su posible existencia, no obstante, ayuda a comprender aquellos casos inicialmente diagnosticados de TE con rasgos morfológicos (aparte de la fibrosis) más bien propios de MFP, que evocan la morfología completa de esta última. Dichos rasgos serían la hipobululación de los núcleos de los megacariocitos, los acúmulos densos de estos, los núcleos desnudos, además de rasgos clínicos y

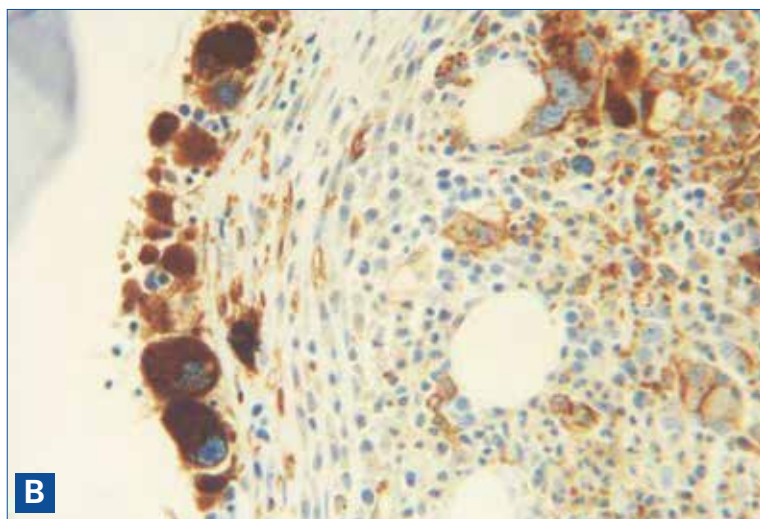
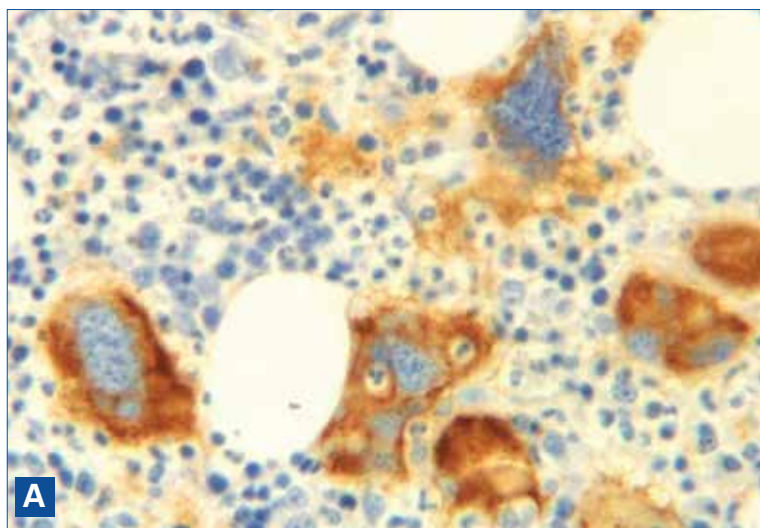


Figura 26. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. A: acúmulo de megacariocitos dismórficos. Núcleo de tipo ‘nube’; el del centro muestra emperipolesis exaltada (CD34 \times 400). B: peculiar imagen en fila de megacariocitos alineados entre la trabécula y una amplia banda fibrótica (CD34 \times 250).

te observación ha demostrado correlación entre el grado de DMV y el de los acúmulos megacariocíticos⁽³⁸⁾. Por último, un hecho adicional relevante es la relativa frecuencia de agregados o nódulos linfoides (hiperplasia nodular linfóide) en la MFP, más habitual en ella que en las otras NMP, especialmente en la fase celular, y posiblemente relacionada con cierto componente hiper- o autoinmune en la patogénesis de la primera⁽³⁹⁾ (**Figuras 22, 39 y 40**). Este puede ser también un dato en apoyo del diagnóstico diferencial en casos difíciles.

analíticos más propios de MFP que de TE. Al menos, la noción de esta eventualidad y su sospecha en un paciente pueden ponernos en guardia para un seguimiento más estrecho.

Con respecto a la transformación mielofibrótica, posible en ambas NMP distintas de la MFP (PV y TE), un estudio reciente señala la dificultad de diferenciar esta situación de la fase avanzada de la MFP. En dicho estudio se compararon los parámetros analíticos, clínicos, citogenéticos y pronósticos de 19 pacientes con mielofibrosis pospolicitémica

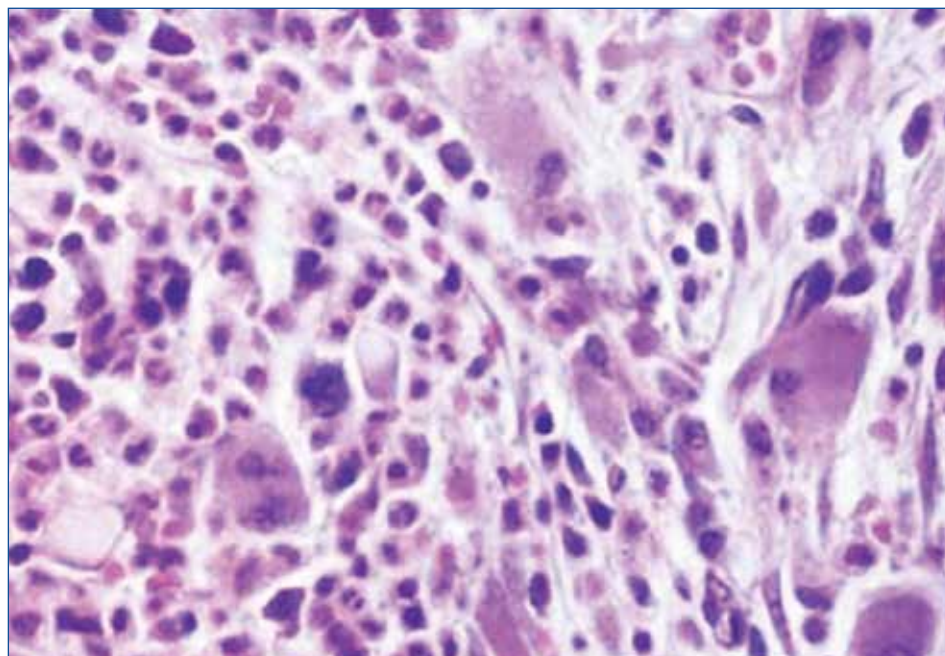


Figura 27. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. MFIL (OMS 2016). Panmielosis; megacariocitos anisocíticos y dismórficos. "Peinado" o "encarrilamiento" de las células por la fibrosis (HE × 400).

Tabla 5. Criterios diagnósticos de mielofibrosis primaria (MFP) de la Organización Mundial de la Salud (OMS)⁽²⁾

Criterios mayores
1. Presencia de proliferación megacariocítica con atipia, acompañada de fibrosis reticulínica o colágena de grados 2 o 3
2. No reunir criterios OMS de trombocitemia esencial, policitemia vera (PV), leucemia mieloide crónica (LMC) <i>BCR-ABL1</i> , síndromes mielodisplásicos u otras neoplasias mieloides
3. Presencia de mutación de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> o <i>MPL</i> o, en ausencia de estas mutaciones, presencia de otro marcador clonal ^a o ausencia de mielofibrosis reactiva ^b
4. Presencia de mutación de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> o <i>MPL</i>
Criterios menores
Presencia de al menos 1 de los siguientes confirmados en 2 determinaciones consecutivas:
a. Anemia no atribuida a otra comorbilidad
b. Leucocitosis $\geq 11 \times 10^9/L$
c. Esplenomegalia palpable
d. Aumento de LDH por encima del rango normal de referencia institucional
e. Leucoeritroblastosis
<i>El diagnóstico de MFP requiere reunir los 3 criterios mayores y al menos 1 criterio menor</i>

^a en ausencia de uno de los 3 criterios mayores, son de ayuda para determinar la naturaleza clonal de la enfermedad las mutaciones más frecuentes (por ejemplo, *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH2*, *SRSF2*, *SF3B1*); ^b fibrosis secundaria a infección, trastorno autoinmune u otra condición inflamatoria, tricoleucemia u otra neoplasia linfóide, neoplasia metastásica o mielopatías tóxicas (crónicas)

o posttrombocitémica con los de 18 con MFP, concluyendo los autores que la MFP y las MF pospolicitémica o posttrombocitémica son clínica y biológicamente indistinguibles⁽⁴¹⁾.

3.3.4. Diagnóstico diferencial histopatológico con las otras neoplasias mieloproliferativas y sus limitaciones

En la actualidad, muy especialmente a partir de la primera publicación de la clasificación de la OMS de las enfermedades oncohematológicas, disponemos para cada una de las NMP de criterios diagnósticos bien establecidos que incluyen hechos clínicos, hematimétricos, histopatológicos, de genética molecular u otros datos biológicos. Por ello, no debemos esperar que los hallazgos de la biopsia nos proporcionen el diagnóstico por sí solos. Por otro lado, resulta obvio que la fase final gastada o fibrótica de cualquiera de estas enfermedades puede ser histopatológicamente común. Los problemas mayores se dan especialmente en fases poco avanzadas. Ello ha motivado esfuerzos de los investigadores, tratando de encontrar criterios histopatológicos diferenciales. Probablemente, la mayor dificultad surge a la hora de diferenciar entre las

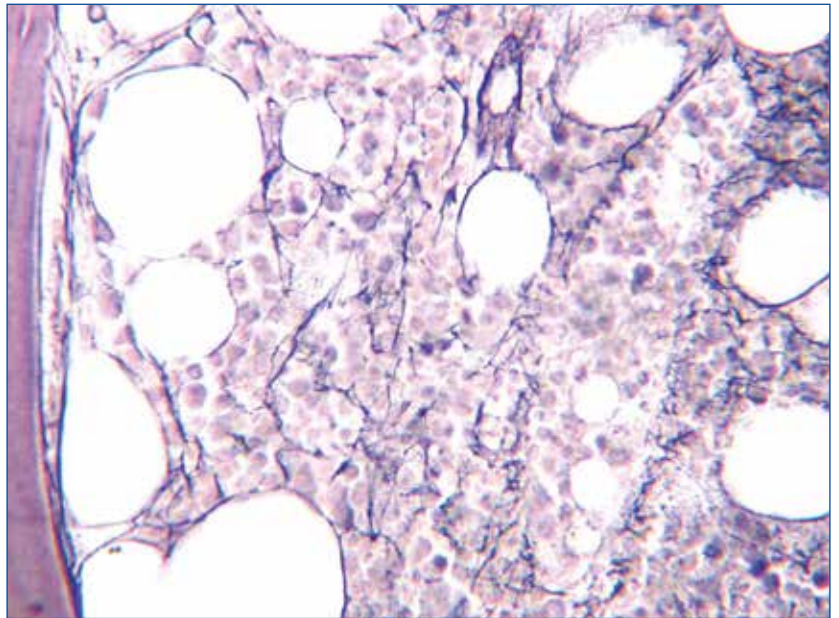


Figura 28. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. MF o (–) (Lennert). Fase fibrótica precoz (Thiele). Moderado refuerzo de fibras (reticulina de Wilder $\times 400$).

fases celulares iniciales de la MFP y la TE. Tras un estudio sobre 168 pacientes con NMP con trombocitosis, Thiele *et al.*⁽⁴⁰⁾ proponen algunas características histopatológicas diferenciales, que se recogen en la **Tabla 6**. Entre todos estos matices destaca la morfología y la disposición de los megacariocitos:

- En la MFP, los megacariocitos son atípicos, de tamaño mediano a gigante, con defectos de maduración nuclear e hipolobulación, que puede dar a sus núcleos aspecto “en nube”; tendencia a formar acúmulos

densos y ocasional distopia (localización en áreas paratrabeculares). Se ven frecuentes fenómenos de cariorrexis y núcleos desnudos, todo ello revelando una profunda alteración en la trombopoyesis.

- En la PV, el tamaño de los megacariocitos es de pequeños a gigantes, anisocíticos o pleomorfos, con núcleos normalmente lobulados, sin defectos de maduración y formando acúmulos laxos.

- En la TE, los megacariocitos son grandes a gigantes, sin defectos de maduración, con núcleos

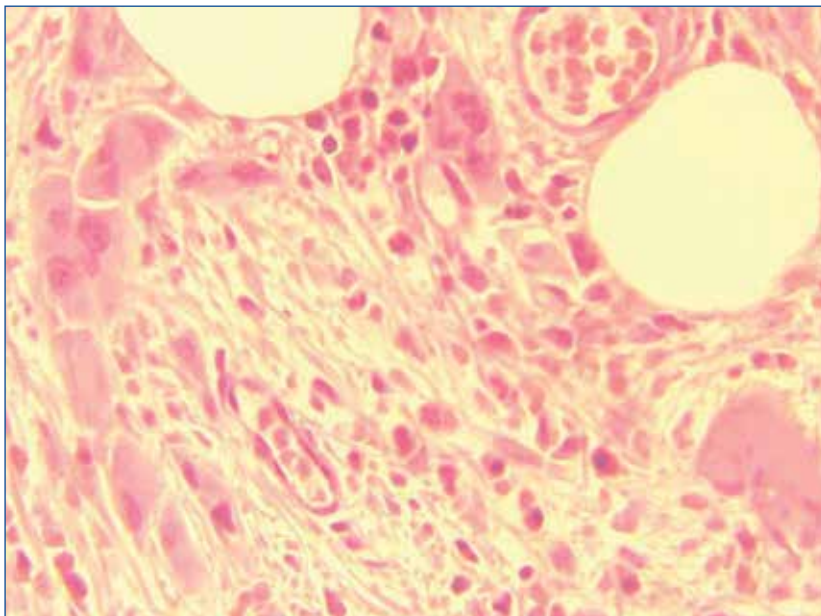


Figura 29. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica (Thiele), MF o (Lennert). Megacariocitos dismórficos y alineados por la fibrosis; celularidad en disminución (HE $\times 400$).

Tabla 6. Diferencias en biopsia medular (BM) entre trombocitemia esencial (TE) y fases precoces de la mielofibrosis con metaplasia mieloide (MMM)*

Criterios histopatológicos BM		TE	MMM prefibrótica	MMM fibrótica precoz
Celularidad		N	+	+
Granulocitos		N	+	+
Eritroblastos		N	–	–
Reticulina		N	N	+
Megacariocitos	Cantidad	+++	++/+++	++/+++
	Agrupaciones	–	+	+
	Tamaño	Grandes a gigantes	Medianos a gigantes	
	Núcleo	Profundamente lobulados	Escasamente lobulados, abollonados, “en nube”	
	Displasia (alteración madurativa núcleo citoplasmática)	No	Marcada	

Ligeramente modificado de Thiele *et al.*⁽⁴⁰⁾. * Actual mielofibrosis primaria

hiperlobulados “en astas de alce” y en acúmulos más bien laxos (Figura 41).

Dada la complejidad y, sobre todo, la posible subjetividad en la apreciación de los cambios histopatológicos más relevantes, es aconsejable disponer de alguna guía o plantilla de la expresión de los hallazgos en cada caso, como la propuesta recientemente en nuestro grupo (Tabla 7)⁽⁴²⁾.

3.3.5. Células CD34+ en la mielofibrosis primaria y en otras neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas

Como en otras situaciones proliferativas, la presencia de células CD34+ se relaciona con la mayor o menor tendencia a evolución a leucemia aguda. En un estudio al respecto en BMO de 575 pacientes con PV, TE y estadios fibroescleróticos

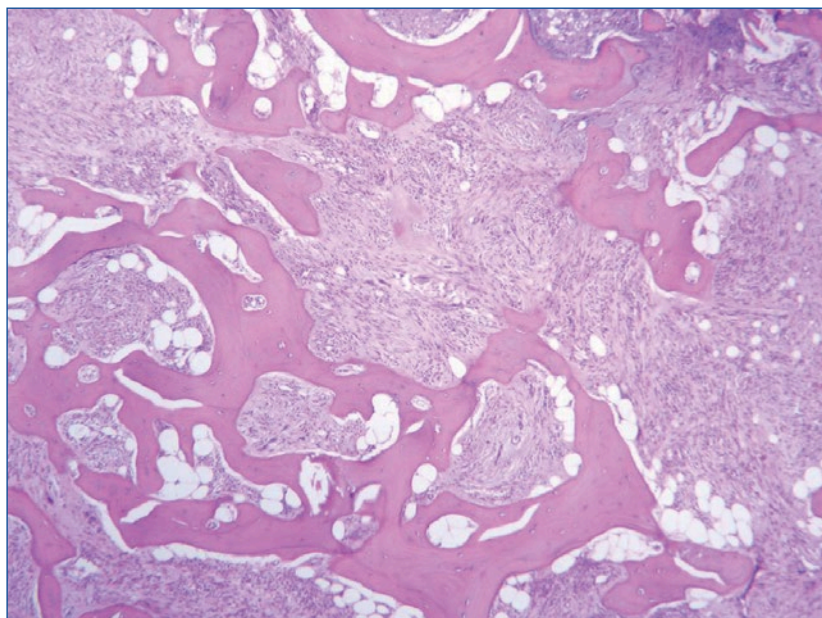


Figura 30. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica avanzada (Thiele), MF o (+) (Lennert). Aumento de la masa trabecular, aspecto fibrótico generalizado, hipocelularidad hematopoyética (HE × 100).

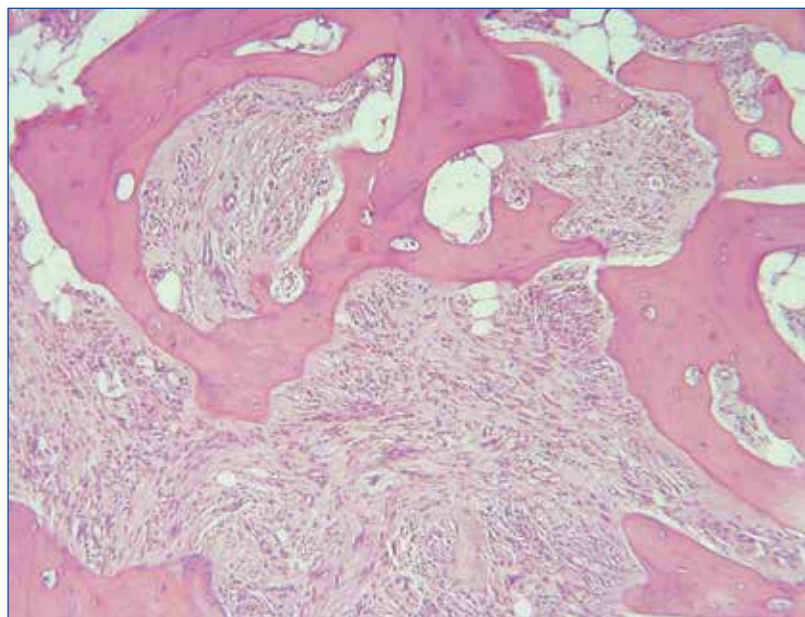


Figura 31. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica avanzada (Thiele) MF o (+) (Lennert). Aumento de la masa trabecular, aspecto fibrótico generalizado, hipocelularidad hematopoyética (HE × 100).

de la MFP, el número de células CD34+ fue similar al de los controles; en las fases prefibrótica y fibrótica precoz de la MFP, sin embargo, su número fue muy superior (16 frente a 6/mm²) y en estadios terminales de aceleración ascendió su número a 24/mm². Se encontró una asociación entre la cantidad de células CD34+ en médula y la fibrosis, esplenomegalia, anemia y blastos en sangre, pero un paradójico buen pronóstico en general para todas las enfermedades del grupo⁽⁴³⁾. Estos resultados deben ser revaluados en otros estudios.

3.3.6. Influencia del tratamiento de la mielofibrosis primaria en la histopatología medular

Los tratamientos tradicionalmente usados en la enfermedad (busulfán, hidroxiurea, interferón o sus combinaciones) han demostrado escasa influencia en cuanto a reducción de la fibrosis. En un estudio de 309 pacientes tratados con tales agentes, el 67% de los pacientes mostró progresión, el 42% una situación estable y solo el 6% una regresión, que generalmente se asociaba a hipoplasia intensa por efectos de un tratamiento agresivo^(44,45). Ya se ha comentado el alcance de la terapéutica antiangiogénica con talidomida o

lenalidomida. Finalmente, pueden considerarse anecdóticos los casos aportados de regresión de la fibrosis tras trasplante alogénico, dada la escasa aplicación de este método terapéutico. En cuanto

Tabla 7. Guía de aspectos microscópicos posibles a valorar en las biopsias de médula ósea (BMO) de neoplasias mieloproliferativas (NMP) Filadelfia negativas –Fi (–)–

1. Celularidad global (normal, aumentada, disminuida)
2. Serie roja (normal, aumentada, disminuida)
3. Serie granulocítica (normal, aumentada, disminuida) LAPI (sí, no)
4. Megacariocitos <ul style="list-style-type: none"> • Aumento (sí, no), tamaño (normales, pequeños, grandes, pequeños a normales, pequeños a grandes, pequeños a gigantes, normales a grandes) • Acúmulos: sí (laxos, densos, laxos y densos), no • Núcleos de megacariocitos: normales, hipolobulados (o en nube), hiperlobulados (o en astas de alce) <ul style="list-style-type: none"> – Núcleos desnudos (sí, no) – Megacariocitos intrasinusoidales (sí, no) – Megacariocitos distópicos (yuxtatrabeculares) • Emperipolesis (sí, aislada, frecuente)
5. Microvasculatura <ul style="list-style-type: none"> • Normal, aumentada, disminuida • Ectasia o hiperplasia sinusoidal (sí, no)
6. Fibrosis (sí –y en su caso, grado OMS 2008–, no)
7. Osteosclerosis (sí, no)

LAPI: localización anormal de precursores inmaduros

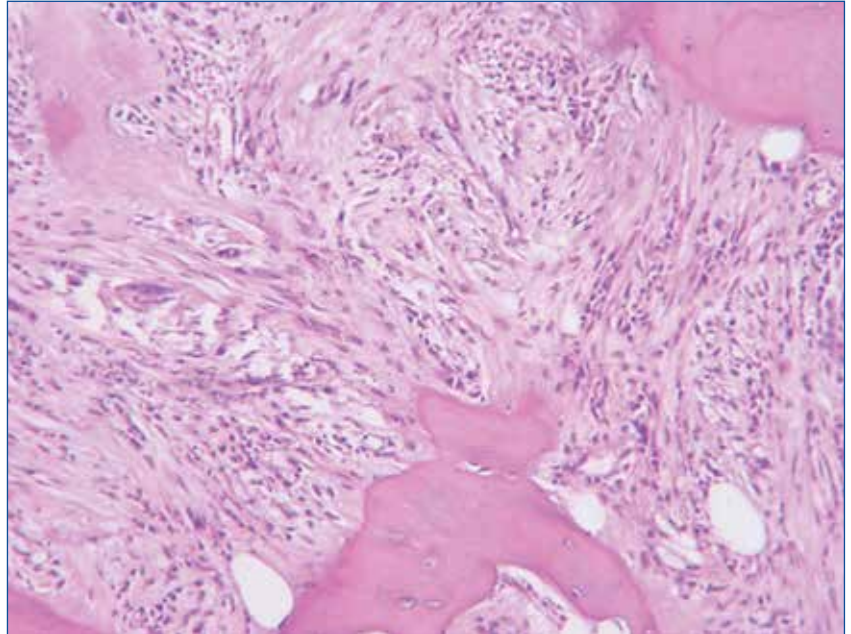


Figura 32. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica avanzada (Thiele) MF o (+) (Lennert). Obsérvese en el centro de la imagen la continuidad de la colagenización con el hueso (HE $\times 400$).

a los pacientes tratados con inhibidores de JAK2, no existe aún evidencia de que estos ejerzan cambios significativos en la histopatología medular, especialmente en reducción de la fibrosis; en un estudio preliminar con imetelstat, un inhibidor de telomerasas, se ha constatado en un pequeño grupo de pacientes desaparición total de la fibrosis⁽⁴⁶⁻⁴⁸⁾.

3.3.7. Recomendaciones prácticas para la indicación de biopsia medular

La BMO es imprescindible para establecer el diagnóstico de MFP, que puede ser sugerido por una clínica y un hemograma característicos y tal vez una punción medular blanca. En el seguimiento, dado el mal pronóstico actual de la enfermedad, suge-

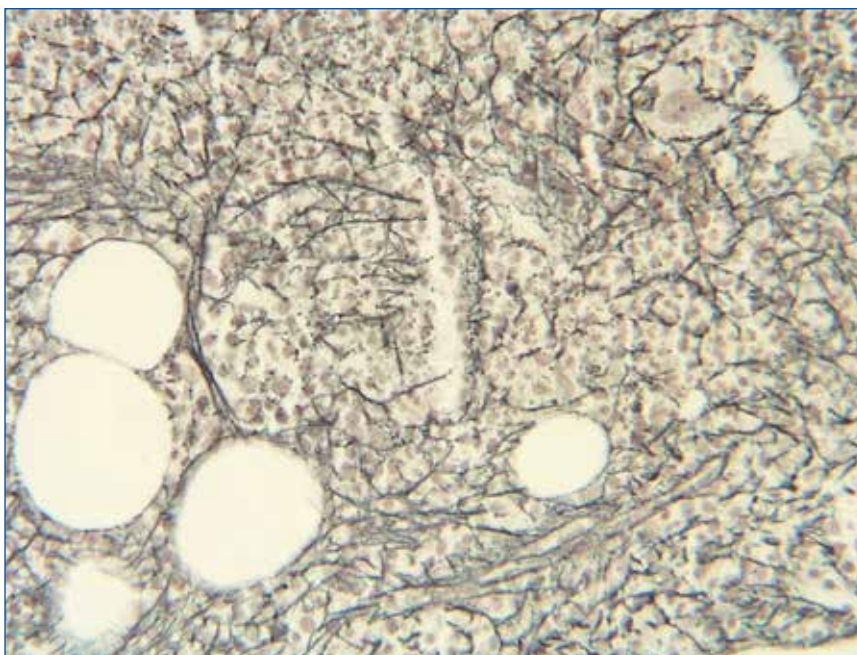


Figura 33. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica avanzada. Abundancia de fibras de reticulina que desestructuran la médula y ahogan la hematopoyesis (reticulina de Wilder $\times 400$).

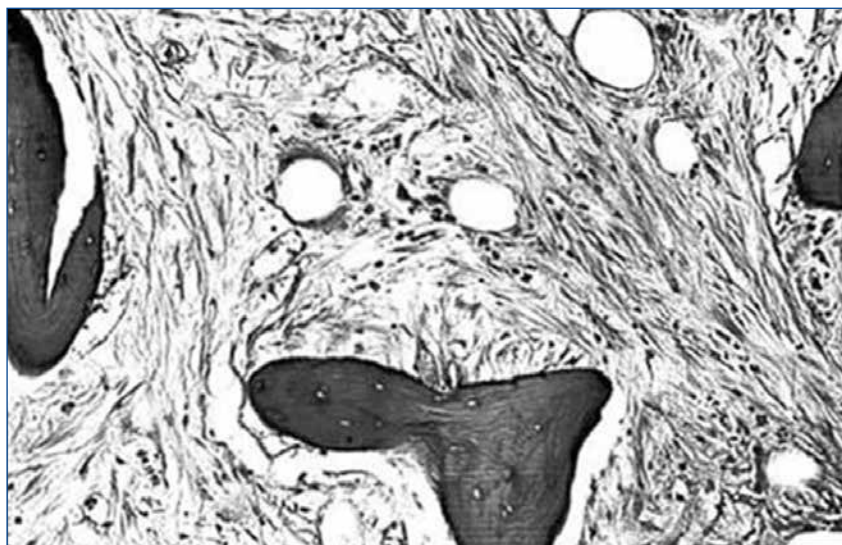


Figura 34. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica avanzada. Gran fibrosis reticulínica con hipocelularidad hematopoyética; trabéculas engrosadas (reticulina de Wilder $\times 400$).

rimos hacer una biopsia cada 2 o 3 años a fin de detectar la posible progresión o la transformación leucémica.

3.3.8. Valoración de la intensidad de la fibrosis medular

Cuando nos enfrentamos a aumento del armazón fibroso en la médula ósea (fibrosis) surge inmediatamente la necesidad de valorar cuál es su intensidad, tanto de cara al diagnóstico inicial como al seguimiento evolutivo. Han sido varios los intentos al respecto. Los métodos objetivos, como los planimétricos o los que utilizan sofisticados analizadores de imágenes, son caros, laboriosos y poco prácticos. Otros que valoran la fibrosis por métodos meramente subjetivos no han sido validados por métodos objetivos o por análisis de su reproducibilidad entre observadores.

Nosotros solemos utilizar un método semiobjetivo sencillo y práctico, ideado por nuestro grupo hace ya muchos años⁽⁴⁹⁾. Este "método óptico" consiste en la catalogación de la fibrosis en 4 grados (0-III) según el aumento mínimo del objetivo necesario ($\times 4$, $\times 10$ o $\times 40$) para que dicha fibrosis sea apreciada: el grado 0 significa que ni siquiera con el objetivo $\times 40$ puede apreciarse fibrosis significativa y corresponde a la presencia normal de fibras reticulínicas; el grado I es aquel en el que se

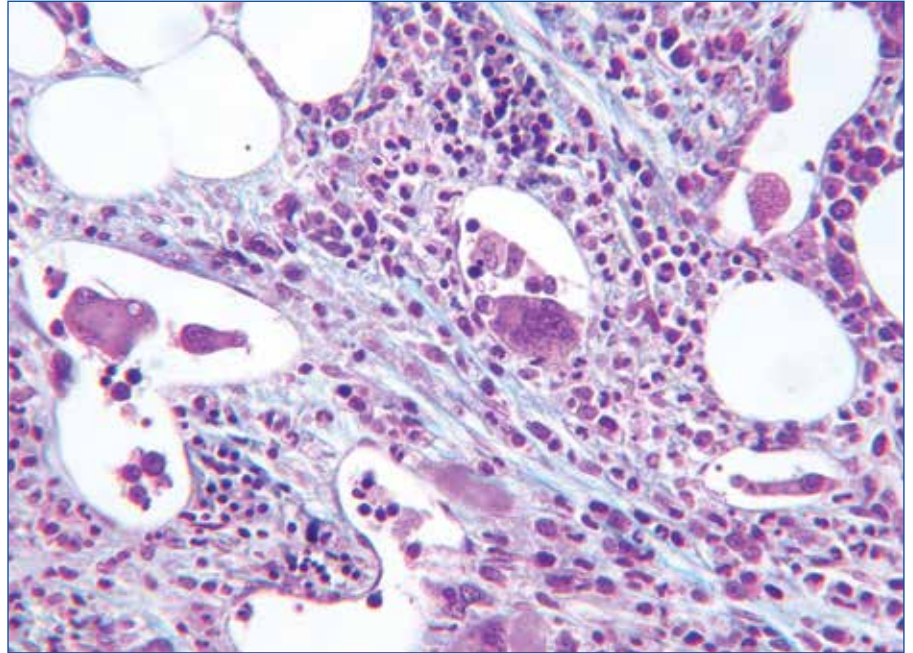
precisa llegar al objetivo $\times 40$ para apreciar alguna fibrosis; el grado II es aquel en el que se no se aprecia fibrosis con objetivo $\times 4$, pero sí con $\times 10$ (y por supuesto con $\times 40$); y el grado III, cuando se aprecia ya la fibrosis con aumento $\times 4$ (Tabla 8 y Figuras 42 a 45). Hemos podido validar este método comparando a doble ciego las lecturas efectuadas con el mismo con la medida histomorfométrica de la longitud de fibras, observándose una buena correlación (Figura 46). Asimismo, se objetivó una apreciable reproducibilidad interobservadores. Como inconvenientes, podemos señalar que quizás el grado III (como se dedujo de nuestro estudio de validación por histomorfometría) podría subdividirse en 2 grados, es decir, no permite distinguir una fibrosis moderada y una intensa, y que el grado I podría corresponder a una red reticulínica normal. Por ello, la observación de fibrosis "colágena" en la tinción tricrómica añade

Tabla 8. Método óptico para la valoración del grado de fibrosis medular en cualquier contexto

Grado de fibrosis	Objetivo para detectar la fibrosis		
	$\times 4$	$\times 10$	$\times 40$
0			
I			+
II		+	+
III	+	+	+

Hernández García *et al.*⁽⁴⁹⁾

Figura 35. Mielofibrosis primaria en fase avanzada. La tinción tricrómica evidencia la fibrosis colágena y además se observan imágenes de megacariocitos intrasinusoidales (tricrómico de Masson $\times 400$).



un componente cuantitativo de utilidad práctica. Recomendamos esta sencilla y reproducible clasificación como base para etiquetar la fibrosis en un concepto amplio, para cualquier situación patológica distinta de las NMP. Para este grupo nosológico, se debe aplicar el consenso europeo de graduación de la fibrosis medular contemplado en la clasificación actualizada de tumores hematopoyéticos

de la OMS revisada en 2008⁽¹⁾ y en 2016⁽²⁾ (**Tabla 9**). En toda valoración de la fibrosis medular, debe tenerse en cuenta que es normal ver algunas fibras de reticulina en torno a los vasos, junto al hueso trabecular o en áreas periféricas o comprimidas por artefacto.

La fibrosis reticulínica de la médula debe ser valorada sin “prejuicios” de observación. No es

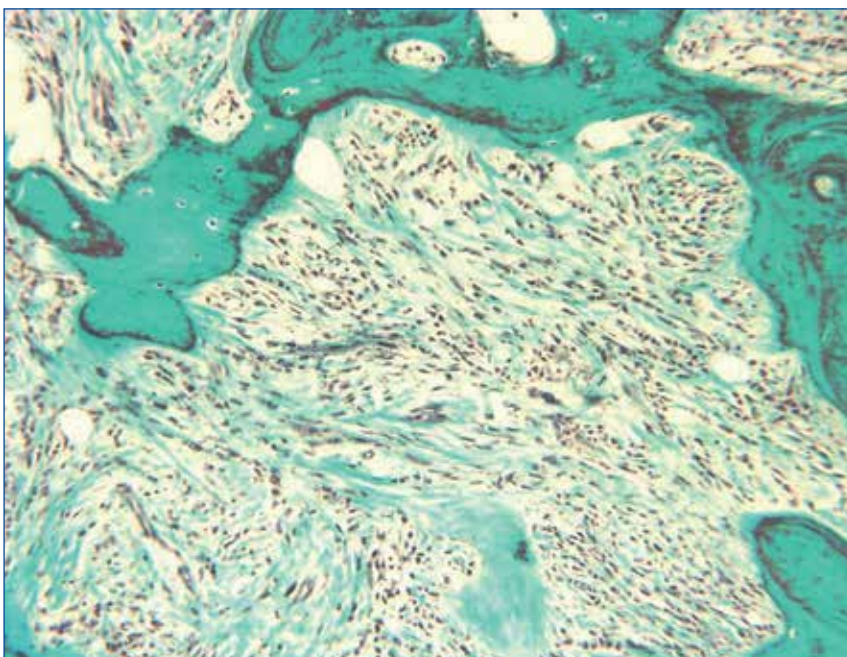


Figura 36. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase fibrótica avanzada. MF o (+). El tricrómico evidencia las fibras colágenas; trabéculas óseas engrosadas e irregulares (Masson $\times 250$).

Tabla 9. Grados de fibrosis medular en las neoplasias mieloproliferativas (NMP). Revisión de la clasificación de las neoplasias mieloides de la Organización Mundial de la Salud (OMS) de 2016⁽²⁾

Grado	Intensidad
MF-0	Ocasional reticulina lineal sin intersecciones correspondientes a médula ósea (MO) normal
MF-I	Red laxa de reticulina con muchas intersecciones, especialmente en áreas perivasculares
MF-II	Áreas densas y difusas de reticulina con muchas intersecciones, ocasionalmente con bandas de colágeno localizadas o fibras gruesas compatibles con colágeno y/o osteosclerosis focal
MF-III	Áreas densas y difusas de reticulina con extensas intersecciones y gruesas bandas de fibras gruesas compatibles con colágeno, habitualmente asociado a osteosclerosis; colágeno con muchas intersecciones

MF: mielofibrosis

recomendable comenzar a evaluar la fibrosis con el objetivo de gran aumento; lo apropiado es hacerlo progresivamente con los objetivos de menor a mayor aumento, pues es normal una tendencia del observador a sobrevalorar el grado de fibrosis.

La mal llamada fibrosis colágena (toda fibra derivada de los fibroblastos está compuesta de co-

lágeno) solo difiere de la fibrosis reticulínica en su densidad, que permite que las fibras resulten positivas en las tinciones tricrómicas y significa un grado avanzado e intenso de fibrosis.

4. La biopsia de médula ósea y su papel en el diagnóstico de las neoplasias mieloproliferativas

Para cerrar este capítulo, hay que destacar que en ningún caso la BMO es por sí sola diagnóstica de ninguna de las NMP. La biopsia es un instrumento indispensable para diagnosticarlas pero en las 4 entidades ofrecerá cambios muy llamativos, a veces compartidos, que son solo una "foto fija" de un proceso dinámico y cambiante, como las propias enfermedades. Es un hecho que las 4 entidades pueden presentar numerosos datos en común, no solo desde el punto de vista clínico, sino también morfológico. Así, por ejemplo, puede ser muy difícil diferenciar, sin más datos que una biopsia, una MFP en fase celular de una TE más o menos hiperplásica o incluso de una LMC. El manejo de numerosos datos clínicos, genéticos/moleculares, bioquímicos y morfológicos, y su concreción en los "criterios" reconocidos por la comunidad científica y oportunamente actualizados, constituyen hoy por hoy la mejor herra-

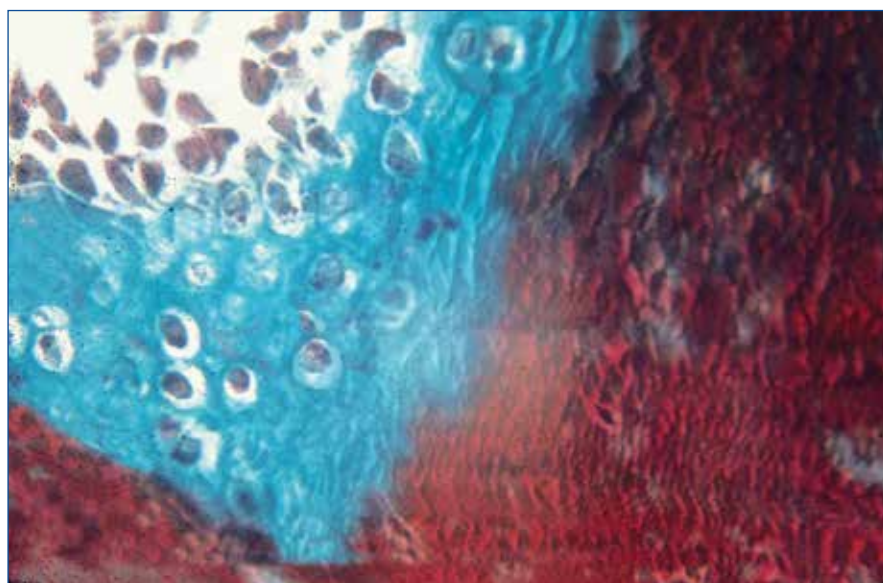


Figura 37. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase osteosclerótica. MF o (+) (Lennert). Los osteoblastos generan neoosteocitos que se incluyen en el ribete osteoide (tricrómico de Masson $\times 1.000$).

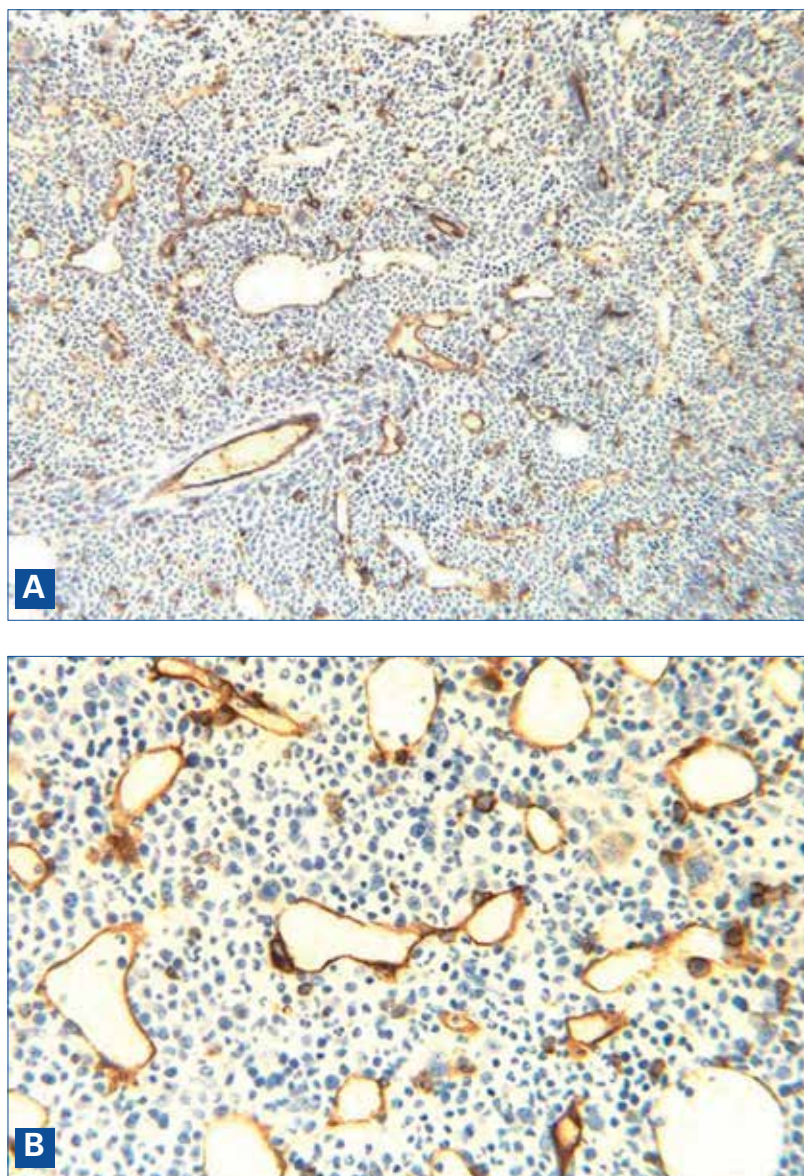


Figura 38. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase celular. Neoangiogénesis (CD 31. A: $\times 60$; B: $\times 250$).

se basan en cambios con un importante componente de subjetividad. Por ello, se han realizado esfuerzos para aunar criterios que ayuden a establecer patrones más propios de cada una de las entidades nosológicas. Así, en nuestro país, Álvarez Larrán⁽⁵⁰⁾ *et al.* han encontrado buena concordancia entre patólogos al establecer el diagnóstico de la NMP concreta, con una elevada especificidad (100% para la PV, 98,5% para la TE y 98% para MFP), pero una sensibilidad baja para TE y PV (54 y 32%, respectivamente) y aceptable para MFP (75%). Solo un 9% de los casos de TE “clínica” (13/146) fue finalmente diagnosticado de MFP prefibrótica.

También se dispone de un trabajo realizado por expertos hematólogos y patólogos de nuestro país que, mediante la metodología Delphi, permite determinar la información esencial que debe incluirse en un informe anatomopatológico de la MFP y homogeneizar así su sistemática diagnóstica en diferentes laboratorios⁽⁵¹⁾. Finalmente, en nuestro grupo, Medina *et al.*^(42,52) han realizado un estudio retrospectivo sobre 140 pacientes con NMP Fi (–) en cuyas BMO fueron evaluadas 18 variables histopatológicas mediante consenso de hematólogos y patólogos, que permitió describir

mienta para llegar al diagnóstico concreto de cada una de las NMP.

4.1. Estudios de validación objetiva y consenso de los patrones histopatológicos en las neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas

A la vista de todo lo anterior, está claro que muchas descripciones de aspectos morfológicos en la NMP

los siguientes patrones característicos en cada una de las 3 NMP:

- PV: el patrón predominante consistió en celularidad global muy aumentada incluyendo, por orden de incremento, las series roja, megacariocítica y granulocítica. Los megacariocitos fueron de pequeños a grandes, en acúmulos laxos o laxos y densos con núcleos normolobulados, ausencia de hierro medular y frecuente hiperplasia/ectasia sinusoidal.

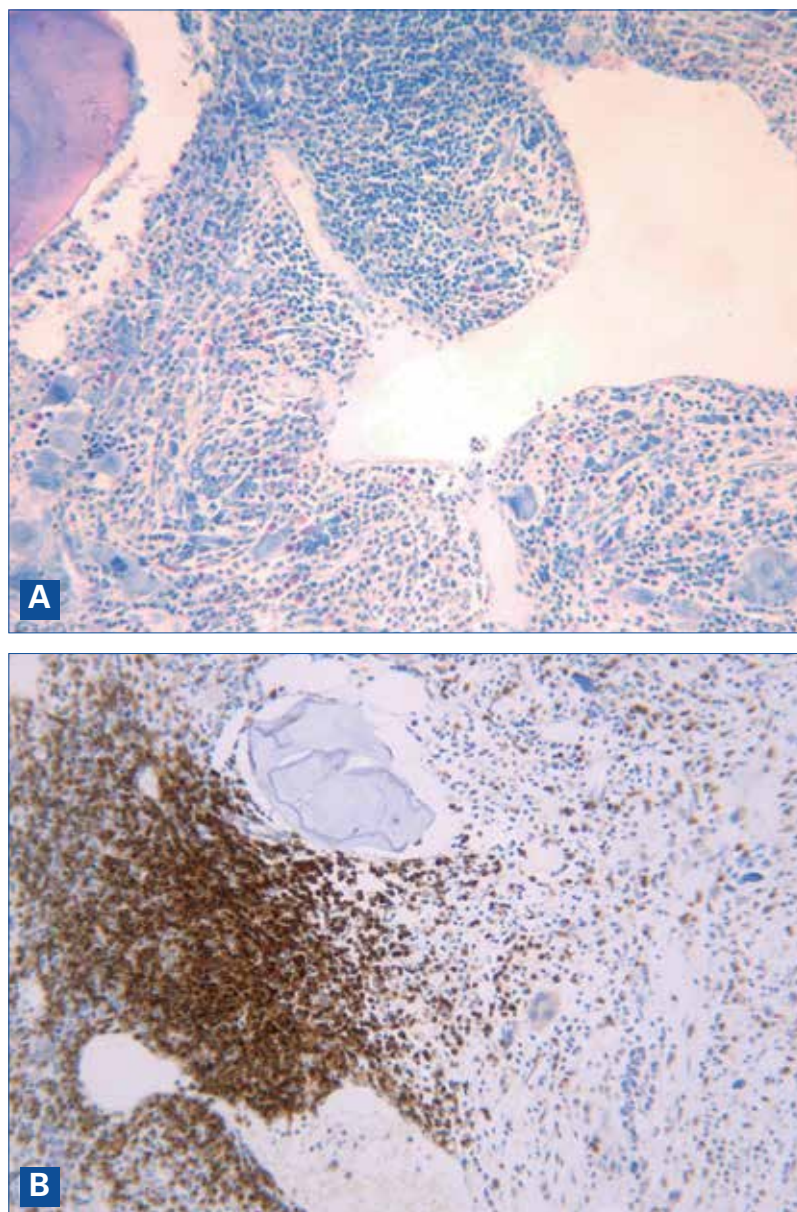


Figura 39. Mielofibrosis con metaplasia mieloide. Fase FM o (–). Nódulo linfoide (A: Giemsa $\times 250$; B: CD3 $\times 250$).

- TE: normocelularidad, sin hiperplasia eritroide ni granulocítica relevantes, con hiperplasia megacariocítica, siendo estas células normo- o hiperlobuladas y de pequeñas a grandes, dispuestas en acúmulos laxos, sin presencia de elementos intrasinusoidales ni distópicos (paratrabeculares), sin fibrosis reticulínica y excepcionalmente se halló algún nódulo linfoide.

- MFP: hiper celularidad marcada con hiperplasia megacariocítica, megacariocitos de pequeños

a gigantes, en acúmulos predominantemente densos (en empedrado), frecuentes núcleos desnudos de megacariocitos, megacariocitos intrasinusoidales (Figura 47) y distopía frecuente; además, marcada hiperplasia vascular y nódulos linfoides más frecuentes que en PV y TE. Fibrosis reticulínica MF-2 o MF-3, fibrosis colágena en grado variable y osteosclerosis.

Recientemente, autores austriacos⁽⁵²⁾ han analizado 112 BMO de pacientes con NMP y, mediante un análisis multivariante, encuentran una semejanza llamativa entre la BMO de pacientes con PV y con MFP, en cuanto a la localización y el tamaño citoplasmático de los megacariocitos. Sin embargo, PV y TE JAK2 V617F mutadas mostraron semejanza de localización, distribución y cantidad de megacariocitos, aunque la morfología de los mismos fue diferente.

Llegados a este punto, cabe pensar que sería necesario un esfuerzo conjunto de varios equipos que, utilizando la misma metodología sobre una serie amplia de biopsias de NMP, analizaran las posibles diferencias y/o similitudes en la morfología histopatológica de las 3 NMP Fi (–).

Cada vez se investiga más acerca del posible impacto que puede tener la morfología medular en el manejo clínico de los pacientes afectados de NMP Fi (–). Así, se ha observado que

la presencia de cierto grado de fibrosis reticulínica en TE y PV al diagnóstico se asocia con un mayor riesgo de transformación mielofibrótica y que un mayor grado de fibrosis en pacientes con MFP se asocia con un peor pronóstico⁽⁵³⁾. Por todo ello, es recomendable que los patólogos y hematólogos utilicen estas propuestas de trabajo para la lectura de las BMO en NMP y en la redacción de sus informes.

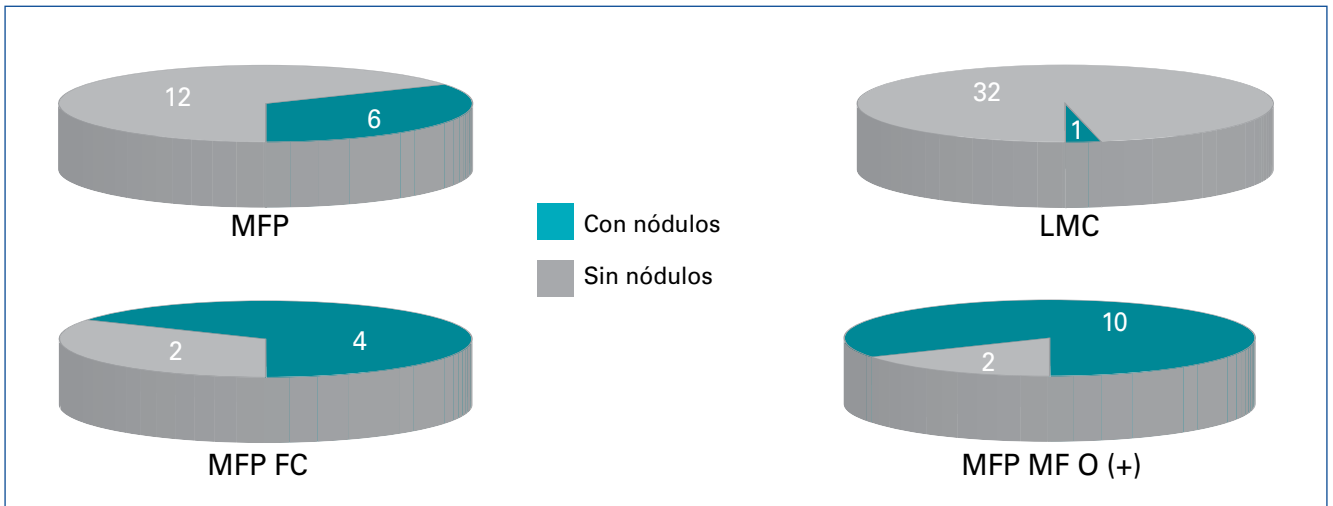


Figura 40. Frecuencia de nódulos linfoides en neoplasias mieloproliferativas (NMP). Mielofibrosis primaria (MFP) frente a leucemia mieloide crónica (LMC) y MFP en fase celular frente a MFP en fase osteosclerótica.

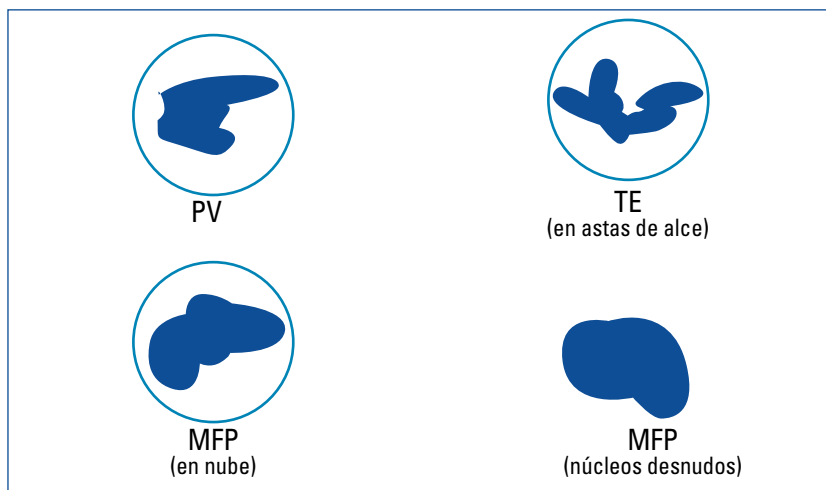


Figura 41. Esquema orientativo de la morfología de los megacariocitos en policitemia vera (PV), trombocitemia esencial (TE) y mielofibrosis primaria (MFP).

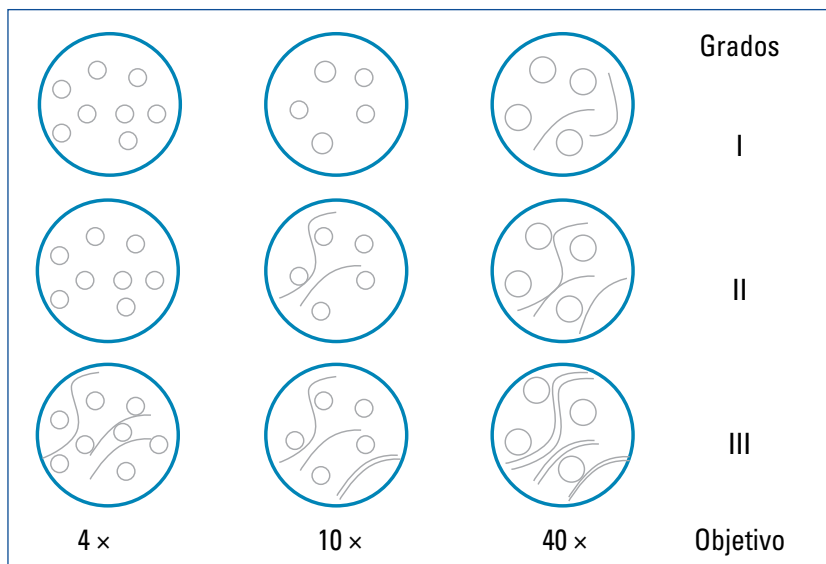


Figura 42. Base del método óptico de valoración de la fibrosis (véase el texto).

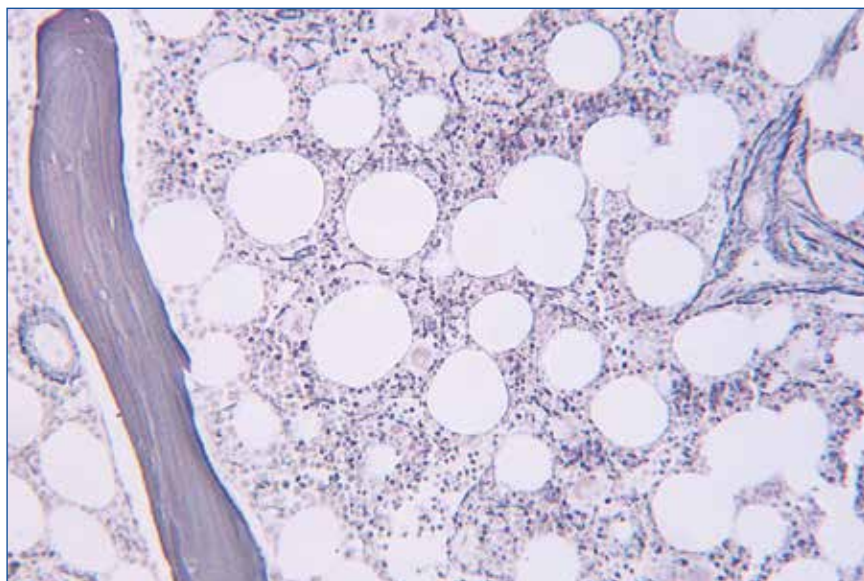


Figura 43. Fibrosis de grado I. Método óptico (exceptuando los vasos) (reticulina de Wilder $\times 250$).

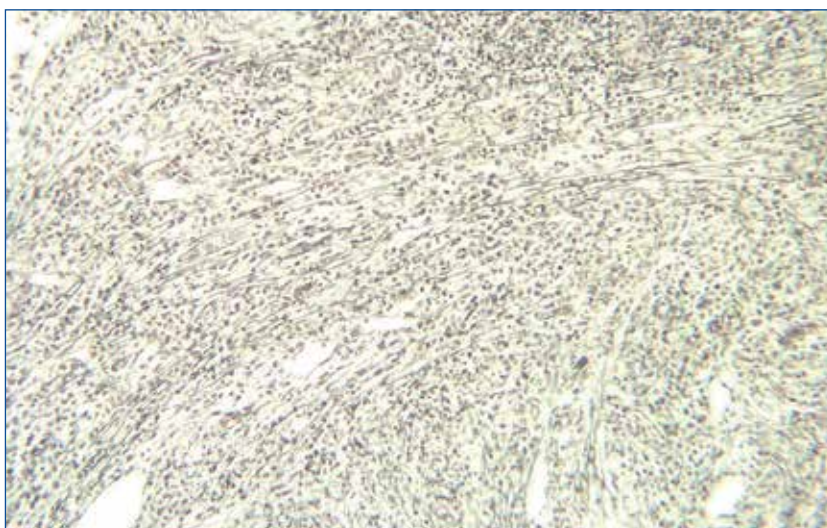


Figura 44. Fibrosis de grado II. Método óptico (reticulina de Wilder $\times 100$).

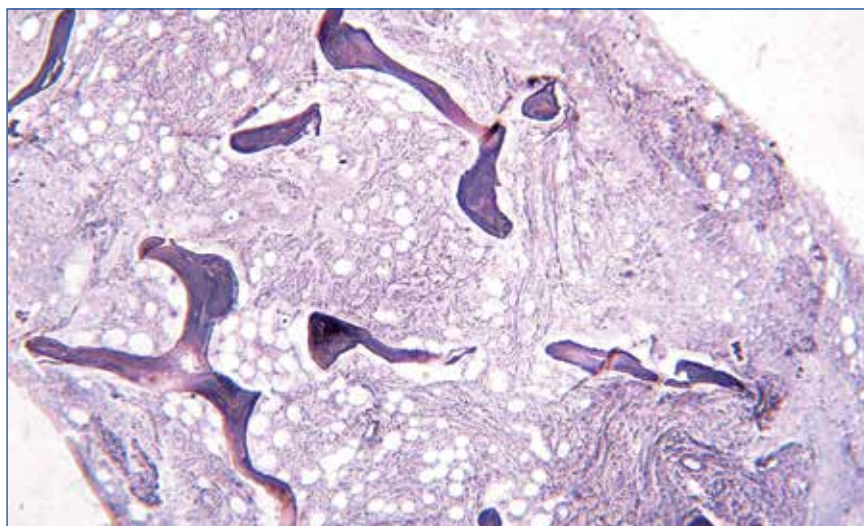


Figura 45. Fibrosis de grado III. Método óptico (reticulina de Wilder $\times 100$).

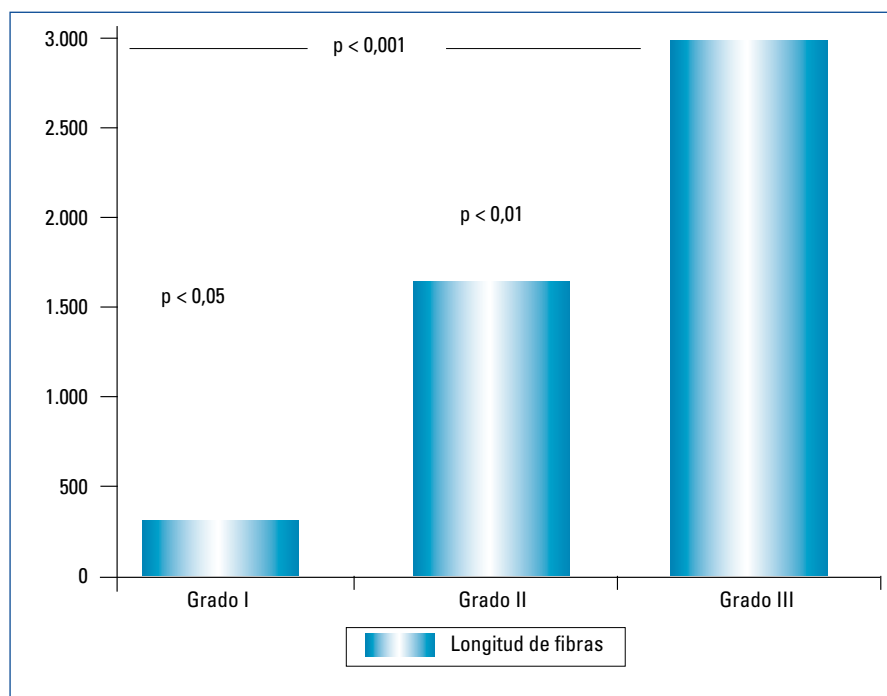


Figura 46. Método óptico de valoración de la fibrosis. Correspondencia entre la longitud de fibras/superficie y los grados valorados por el método⁽⁴⁸⁾.

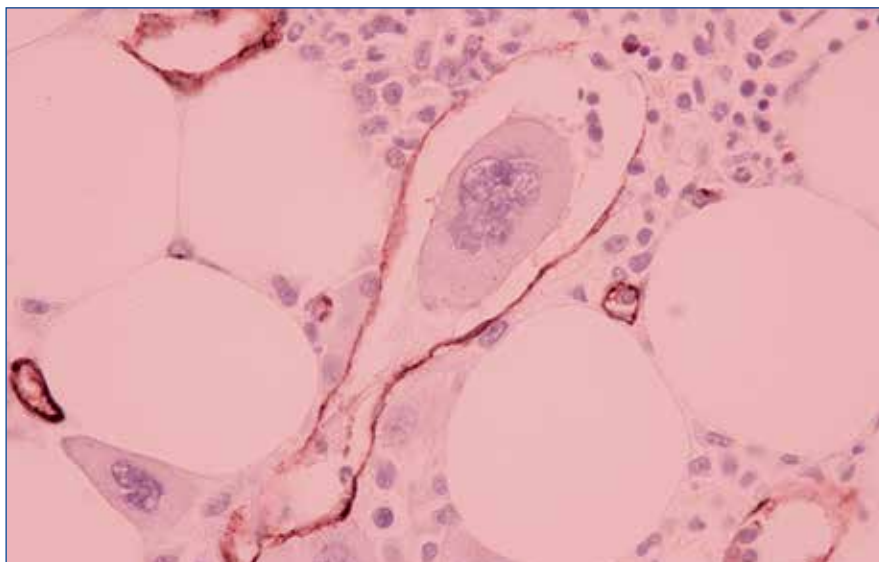


Figura 47. Mielofibrosis primaria en fase avanzada. Localización intrasinusoidal de megacariocitos (CD34 \times 1.000).

5. Bibliografía

1. Swederlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. Tumors of haematopoyetic and lymphoid tissues. WHO Clasiffication of Tumors. 4th ed. Lyon: IARC Press; 2008.
2. Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, Thiele J, Borowitz MJ, Le Beau MM, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. Blood. 2016;127:2391-405.
3. Baxter EJ, Scott LM, Campbell PJ, East C, Fourouclas N, Swanton S, et al. Adquired mutation of the tyrosin kinase JAK2 in human myeloproliferative disorders. Lancet. 2005;365:1054-61.
4. Levine RI, Wadleigh M, Cools J, Ebert BL, Wernig G, Huntly BJ, et al. Activating mutation of the tyrosin kinase JAK2 in polycythemia vera, essential thrombocythemia and myeloid metaplasia with myelofibrosis. Cancer Cell. 2005;7:387-97.

5. James C, Ugo V, Le Coudic JP, Staerk J, Delhomeau F, Lacout C, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signaling causes polycythemia vera. *Nature*. 2005;434:144-8.
6. Klampf T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, Nivarthi H, Rumi E, Milosevic JD, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;201(369):2379-90.
7. Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, Nice FL, Gundem G, Wedge DC, et al. Somatic CALR mutations in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 2013;2391-405.
8. Kimura S. Current status of ABL tyrosine kinase inhibitors stop studies for chronic myeloid leukemia. *Stem Cell Investig*. 2016;3:36.
9. Sauße S, Richter J, Hochhaus A, Mahon FX. The concept of treatment-free remission in chronic myeloid leukemia. *Leukemia*. 2016;30:1638-47.
10. Devrez C, Diebold J, Bernadou A, Bilsky-Pasquier G. L'histologie de la moelle osseuse dans la leucémie myéloïde chronique. *Nouv Rev Fr Hématol*. 1976;5:123-4.
11. Devrez C, Diebold J. La myelofibrose au cours des hémopathies. Valeur diagnostic et pronostic. *Sem Hosp Paris*. 1974;50:1625-34.
12. Duhamel G. *Histopatologie Clinique de la moelle osseuse*. Paris: Masson et Cie; 1974.
13. Panteli K, Zagorianakou N, Bai M, Katsaraki A, Agnantis NJ, Bourantas K. Angiogenesis in chronic myeloproliferative disorders detected by CD34 expression. *Eur J Haematol*. 2004;72:410-5.
14. Agis H, Sotlar K, Valent P, Horny HP. Ph-chromosome-positive chronic myeloid leukemia with associated bone marrow mastocytosis. *Leuk Res*. 2005;29:1227-32.
15. Cervantes F, Rozman C, Feliu E. Prognostic evaluation of initial bone marrow histopathologic features in chronic granulocytic leukemia. *Acta Haematol (Basel)*. 1989;82:12-5.
16. Beham-Schmid C, Apfelbeck U, Sill H, Tsybrovsky O, Hofler G, Haas OA, Linkesch W. Treatment of chronic myelogenous leukemia with the tyrosine kinase inhibitor STI571 results in marked regression of bone marrow fibrosis. *Blood*. 2002;99:381-3.
17. Bueso-Ramos CE, Cortés J, Talpaz M, O'Brian S, Gilles F, Ríos MB, et al. Imatinib mesylate therapy reduces bone marrow fibrosis in patients with chronic myelogenous leukemia. *Cancer*. 2004;101:332-6.
18. Hassarjian RP, Boecklin F, Parker S, Chase A, Dhar S, Zaiac M, et al. STI571 (imatinib mesylate) reduces bone marrow cellularity and normalizes morphological features irrespective of cytogenetic response. *Am J Clin Pathol*. 2002;117:355-7.
19. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Graeff, Kriener S, Engels K, Staib P, et al. Bone marrow changes in chronic myelogenous leukemia after long-term treatment with the tyrosine kinase inhibitor STI571: an immunohistochemical study on 75 patients. *Histopathology*. 2005;46:540-50.
20. Cerny-Reiterer S, Rabenhorst A, Stefanzi G, Herndlhofer S, Hoermann G, Leonhard Müllauer, Sigrid Baumgartner S. Long-term treatment with imatinib results in profound mast cell deficiency in Ph+ chronic myeloid leukemia. *Oncotarget*. 2014;6:3071-8.
21. Tefferi. Polycythemia vera: a comprehensive review and clinical recommendations. *Mayo Clin Proc*. 2003;78:174-94.
22. Peterson P, Ellis JT. The bone marrow in polycythemia vera. En: Wasserman LR, Berk PD, Berlin NI (eds.). *Polycythemia vera and the myeloproliferative disorders*. Philadelphia: WB Saunders; 1995. pp. 31-53.
23. Thiele J, Kvasnicka HM. Diagnostic impact of bone marrow histopathology in polycythemia vera (PV). *Histol Histopathology*. 2005;20:317-28.
24. Michiels JJ, Kvasnicka HM, Thiele J. *Myeloproliferative disorders. Current perspectives on diagnostic criteria, histopathology and treatment of essential thrombocythemia, polycythemia rubra vera and chronic idiopathic myelofibrosis*. Munich: Verlag ME-Uwe Grunwald; 2005.
25. Hernández Nieto L, Brito ML, Raya JM, Álvarez Arguelles H, Hernández García MT, Machado P, González Brito G. Hiperplasia-ectasia sinusoidal de la médula ósea en síndromes mieloproliferativos crónicos y síndromes mielodisplásicos (resumen). *Sangre*. 1994;39(Suppl 2):129.
26. Kreft A, Nolde C, Büsche G, Buhr T, Kreipe H, Georgii A. Polycythemia vera: bone marrow histopathology under treatment with interferon, hydroxyurea and busulphan. *Eur J Haematol*. 2000;64:32-41.
27. Besses Raebeil C, Sans Sabrafen J. Síndromes mieloproliferativos crónicos I. Policitemia vera y trombocitemia esencial. En: Sans-Sabrafen J, Besses Raebeil C, Vives Corrons JL (eds.). *Hematología clínica*. 4.ª ed. Barcelona: Harcourt; 2001. pp. 301-18.
28. Thiele J, Kvasnicka HM, Orazi A. Bone marrow histopathology in myeloproliferative disorders. Current diagnostic approach. *Seminars Hematol*. 2005;42:184-95.
29. Michiels JJ. Bone marrow histopathology and biological markers as specific clues to the differential diagnosis of essential thrombocythemia, polycythemia vera and prefi-

- brotic or fibrotic agnogenic myeloid metaplasia. *Hematol J*. 2004;5:93-102.
30. Kreft A, Buche G, Ghalibafian M, Buhr T, Fischer T, Kirkpatrick CJ. The incidence of myelofibrosis in essential thrombocythemia, polycythemia vera, and chronic idiopathic myelofibrosis: a retrospective evaluation of sequential bone marrow biopsies. *Acta Haematol*. 2005;113:137-43.
31. Bock O, Schlué J, Mengel M, Büsche Sensiröz E, Kreipe H. Thrombopoietin receptor (Mpl) expression by megakaryocytes in myeloproliferative disorders. *J Pathol*. 2004;203:609-15.
32. Mesa RA, Hanson CA, Li CY, Ion SY, Rajkumar SV, Schroeder G, Tefferi A. Diagnostic and prognostic value of bone marrow angiogenesis and megakaryocyte c-Mpl expression in essential thrombocythemia. *Blood*. 2002;99:4131-7.
33. Stein H, Bob R, Dürkop H, Erck C, Kämpfe D, Kvasnicka HM, et al. A new monoclonal antibody (CAL2) detects calreticulin mutations in formalin-fixed and paraffin embedded bone marrow biopsies. *Leukemia*. 2016;30:131-5.
34. Thiele J, Kvasnicka HM, Fuchs N, Brunnbauer K, Volkwein N, Schmitt-Graeff A. Anagrelide-induced bone marrow changes during therapy of chronic myeloproliferative disorders with thrombocytosis. An immunohistochemical and morphometric study of sequential trephine biopsies. *Hematologica*. 2003;88:1130-8.
35. Harrison CN, Campbell PJ, Buck G, Wheatley K, East CL, Bareford D, et al. Hydroxyurea compared with anagrelide in high risk essential thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2005;353:33-45.
36. Tefferi A. Myelofibrosis with myeloid metaplasia. *N Engl J Med*. 2000;342:1255-65.
37. Piccaluga PP, Visani G, Pileri SA, Ascani S, Grafone T, Isidori A, et al. Clinical efficacy and antiangiogenic activity of thalidomide in myelofibrosis with myeloid metaplasia. A pilot study. *Leukemia*. 2002;16:1609-14.
38. Thomas DA, Giles FJ, Albitar M, Cortés JE, Verstovsek S, Fader S, et al. Thalidomide therapy for myelofibrosis with myeloid metaplasia. *Cancer*. 2006;106:1974-84.
39. Hernández Nieto L, Morey Sureda M, Grañena A, Montserrat Costa E, Felú E, Rozman C. Les nodules lymphoïdes de la moelle dans la splénomégalie myéloïde: comparaison avec la leucémie myéloïde chronique. *Nouv Rev Fr Hématol*. 1979;21:251-6.
40. Thiele J, Imbert M, Pierre R, Vardiman JW, Brunning RD, Flandrin G. Chronic idiopathic myelofibrosis. En: Jeffe ES, Harris NL, Stein H, Vardiman JW (eds.). *WHO Classification of Tumors: Tumors of Haematopoietic and Lymphoid Tissues*. Lyon: IARC Press; 2001. pp. 35-8.
41. Sangle NS, Cook J, Perkins S, Teman C, Bahler D, Hickman K, et al. Myelofibrotic transformations of polycythemia vera and essential thrombocythemia are morphologically, biologically and prognostically indistinguishable from primary myelofibrosis. *Appl Immunohistochem Mol Morphol*. 2014;22:663-8.
42. Medina Vega L. Análisis integrado clínico, molecular e histopatológico de la médula ósea en las neoplasias mieloproliferativas crónicas Filadelfia negativas. Tesis doctoral. España: Universidad de La Laguna; 2016.
43. Thiele J, Kvasnicka HM, Zankovich R, Diehl V. Relevance of bone marrow features in the differential diagnosis between essential thrombocythemia and early stage idiopathic myelofibrosis. *Hematologica*. 2000;85:1126-34.
44. Thiele J, Kvasnicka HM, Diehl V. Bone marrow CD34+ progenitor cells in Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders. A clinicopathological study on 575 patients. *Leuk Lymphoma*. 2005;46:709-15.
45. Thiele J, Kvasnicka HM, Schmitt-Graeff A, Diehl V. Dynamic of fibrosis in chronic idiopathic (primary) myelofibrosis during therapy: a follow study on 309 patients. *Leuk Lymphoma*. 2003;44:949-53.
46. Mascarenhas J, Hoffman J. A comprehensive review and analysis of the effect of ruxitinib therapy on the survival of patients with myelofibrosis. *Blood*. 2013;121:4832-27.
47. Tefferi A, Lasho TL, Begna KH, Patnaik MM, Zblewski DL, Finke CM, et al. A pilot study of the telomerase inhibitor imetelstat for myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2015;373:908-19.
48. Tefferi A. Primary myelofibrosis: 2017 update on diagnostic and risk stratification, and management. *Am J Hematol*. 2016;91:1261-70.
49. Hernández García MT, Hernández Nieto L, Brito Barroso ML, González Brito G. Bone marrow fibrosis: histomorphometric analysis and interobservers reproducibility of a simple optical method of assessing its intensity. *Clin Lab Haemat*. 1993;15:129-35.
50. Álvarez Larrán A, Ancochea A, García M, Climent F, García-Pallarols F, Angona A, et al. WHO-histological criteria for myeloproliferative neoplasms: reproducibility, diagnostic accuracy and correlation with gene mutations and clinical outcomes. *Br J Haematol*. 2014;166:911-9.
51. Raya JM, Montes-Moreno S, Acevedo A, Ferrández A, Fraga M, García JF, et al. Pathology reporting of bone marrow biopsy in myelofibrosis; application of the Delphi consen-

sus process to the development of a standardised diagnostic report. J Clin Pathol. 2014;67:620-5.

52. Medina Vega L, Hernández Nieto L, Álvarez Argüelles H, García Hernández S, Soria Santabárbara B, Gutiérrez Murillo L, et al. ¿Afecta el estado mutacional de los pacientes con neoplasias mieloproliferativas Filadelfia negativas a los hallazgos morfológicos presentes en la biopsia de médula ósea? LVIII Congreso Nacional de la Sociedad

Española de Hematología y Hemoterapia SEHH-SETH. Boletín de Comunicaciones. Santiago de Compostela; 2016. Póster.

53. Vytruva N, Stacher E, Regitning P, Zinke-Cerwenka W, Hojas S, Hubmann E, et al. Megakaryocyte morphology and clinical parameters in essential thrombocythemia, Polycythemia Vera, and Primary Myelofibrosis. Arch Pathol Lab Med. 2014;138:1203-9.

Biopsia medular en las neoplasias linfoides

Luis Colomo Saperas, Lola Tobalina Maestre, Miguel T. Hernández García

1. Introducción

Las biopsias de médula ósea (BMO) se indican principalmente con el objetivo de identificar la presencia de infiltración medular por procesos linfoproliferativos^(1,2). En la interpretación de este tipo de biopsias, los patólogos se enfrentan a 2 situaciones diferentes:

1. Evaluar la médula ósea de un enfermo con un diagnóstico histológico previo de linfoma. La biopsia se realiza como parte del estudio de extensión de la enfermedad o para evaluar la respuesta al tratamiento o posible progresión. En este caso, lo que se le pide al patólogo es que decida si la médula ósea está afectada o no por el linfoma que presenta el enfermo e intente asimismo cuantificar el grado de infiltración.

2. Evaluar la médula ósea de un enfermo con sospecha de linfoma pero sin un diagnóstico histológico previo de la enfermedad. En estas circunstancias, lo que se le pide al patólogo es que, a través de la biopsia medular, averigüe si el enfermo presenta o no un proceso linfoproliferativo. Esta situación es menos frecuente y suele producirse por 3 razones diferentes:

- Cuando se realiza la biopsia medular como parte de un protocolo para evaluar una fiebre de origen desconocido.
- Cuando en un enfermo de edad avanzada y/o con mal estado general, solo se detectan adenopatías profundas cuya biopsia supondría un cierto

riesgo, por lo que la intervención quirúrgica solo se contempla como una segunda alternativa.

- Cuando, debido a la programación de las exploraciones, la biopsia medular precede a la biopsia ganglionar o a la de cualquier otro órgano afecto.

2. Aspectos clínicos

Si se hace o no BMO, en qué momentos realizarla, si se hace bilateral o no, o si debe complementarse con otras exploraciones son decisiones que toma el clínico y son cada vez más complejas.

2.1. ¿Debe hacerse en todos los casos? ¿Cuándo realizarla?

1. Estadificación inicial (al diagnóstico): desde que se estableció la indicación de la BMO como parte del estudio de extensión de las neoplasias linfoides, esta exploración se indicaba en todos los casos. Tras ir profundizando en su estudio y con el advenimiento de nuevas técnicas como la tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/TC), se ha ido redefiniendo su papel, quedando en la actualidad como sigue (véase también el capítulo 11):

- Linfoma de Hodgkin. La BMO no es imprescindible en todos los casos. Así, si no hay citopenias

inexplicadas, síntomas B ni factores pronósticos desfavorables y la PET/TC es negativa para afectación de la médula ósea, puede obviarse la BMO. Para ello, la afectación en la PET/TC ha de ser focal, pues para la afectación difusa recomendamos realizar la BMO.

- Linfoma no Hodgkin difuso de células grandes B (LNHDCGB). La BMO es una exploración que se puede evitar cuando la PET/TC es positiva en la médula ósea. Cuando la PET/TC es negativa, en nuestra opinión debe hacerse BMO, aunque el porcentaje de afectación sea bajo. Cuando es positiva no es imprescindible, pero por ahora nosotros seguimos haciéndola pues es una exploración, aunque algo molesta, bastante segura, se puede hacer de forma ambulatoria y es la única forma de saber si hay una eventual discordancia entre el tipo celular del ganglio y de la médula ósea. Debe tenerse presente que, aunque una BMO resulte negativa histológicamente, pueden detectarse células neoplásicas en la médula ósea por citofluorometría de flujo, lo que resulta clínicamente relevante en los estadios localizados cuyo estándar de tratamiento es una combinación de inmunoterapia reducida seguida de radioterapia.

- Otros linfomas. La realización de la BMO sigue siendo estándar en la estadificación inicial, siempre y cuando se planee el inicio del tratamiento. En casos de neoplasias linfoides indolentes, como el linfoma folicular (LF) o la leucemia linfática crónica (LLC), en los que se pospone el tratamiento, la BMO se puede diferir hasta que haya criterios para iniciarlo.

2. Revaluación terapéutica. Si en la estadificación inicial la BMO estaba afecta, debe repetirse al finalizar el tratamiento para valorar si persiste o no la enfermedad. No debe hacerse si ya en la estadificación inicial la BMO resultó negativa.

3. Sospecha de recidiva o progresión. Se actuará como en la estadificación inicial.

2.2. Unilateral vs. bilateral

En nuestra experiencia, la BMO bilateral puede aumentar hasta un 25% los casos con afectación linfomatosa^(3,4), aunque el porcentaje reportado por otros autores oscila entre el 10 y el 60%⁽⁵⁻⁸⁾. Este es

un porcentaje máximo, pues el azar haría que ese aumento se redujese en un 50%. Si debe realizarse bilateralmente o no sigue siendo todavía un tema controvertido y hasta ahora no se ha realizado un estudio prospectivo y aleatorizado que pueda responder a esta pregunta. Realizar una BMO bilateral tiene 2 potenciales ventajas: una es la de aumentar la cantidad de tejido examinado y la otra es la de explorar otra localización anatómica. Esta última no se ha analizado adecuadamente y solo hay un estudio en el que se hayan realizado biopsias dobles ipsilaterales o bilaterales, pero no de forma prospectiva ni aleatorizada, encontrando más discordancia en las BMO dobles cuando se hace contralateral que ipsilateral⁽⁷⁾.

Respecto al tamaño que debe tener, hay discrepancias, entre otras razones porque no es el mismo tamaño del cilindro en fresco que los cortes una vez procesado, existiendo una reducción del 25% en este último caso, aceptándose que la longitud del cilindro debería ser de al menos entre 1,6 y 2,0 cm⁽⁹⁻¹¹⁾. A este respecto, Campbell *et al.* han demostrado, en pacientes con LNHDGB, mayor tasa de afectación cuando el cilindro es ≥ 2 cm que cuando es menor, pero solo cuando se examinaron varios cortes a distintos niveles, con una media de 4 cortes. El aumento de rendimiento al examinar más cortes es notable y esta es una valiosa contribución, aparte de ratificar que el tamaño mínimo ideal es de 2 cm, como había sugerido empíricamente el National Cancer Institute (NCI)⁽¹²⁾. Sin embargo, en ese trabajo se cuestiona el valor de la bilateralidad y se da a entender que una BMO de más de 2 cm es suficiente e innecesaria la bilateral. En nuestra opinión, existen diversas razones metodológicas en este estudio que limitan esta última afirmación.

En cualquier caso, la frecuencia de disparidad en la BMO bilateral varía según el tipo de linfoma, por lo que es sensato definir cuáles son los que se pueden beneficiar o no de la BMO bilateral; así, tenemos:

1. LLC: se recomienda unilateral antes de iniciar el tratamiento.

2. Linfoma de Burkitt, linfoblástico y de la zona marginal: la BMO unilateral es el estándar.

3. LF indolente (grado 1-2): la BMO bilateral puede ser útil en todos los casos. Pero es necesario

hacerla bilateral en estadios localizados que vayan a ser tratados solo con radioterapia (o radioterapia y curso breve de quimioterapia) y antes de iniciar radioinmunoterapia (en la que debe asegurarse que la infiltración linfomatosa no sea superior al 25%).

4. LNHDCGB (cuando está indicada, véase más arriba), linfoma de células del manto (LCM) y linfomas T periféricos: la BMO bilateral podrá detectar enfermedad medular en más casos.

5. Linfoma de Hodgkin. Aunque la frecuencia de afectación medular es muy baja, es el tipo de linfoma que presenta mayor discordancia de afectación entre ambos lados de la BMO, por lo que en los casos en que la BMO está indicada (véase más arriba) es aconsejable hacerla bilateral.

2.3. Otras exploraciones adicionales

En el momento de realizar la BMO debe aprovecharse para obtener muestra de la médula ósea mediante aspirado medular. Las muestras así obtenidas servirán para el análisis, cuando estuviera indicado, del inmunofenotipo mediante citometría de flujo (CMF), del estudio citogenético y del estudio molecular. Estos estudios en algunos casos pueden contribuir al diagnóstico y a detectar afectación medular oculta al examen microscópico.

3. Datos que se deben evaluar al interpretar las biopsias medulares de los enfermos con linfoma

Sobre las BMO es posible evaluar todas las técnicas realizadas sobre otros tejidos⁽¹³⁻¹⁷⁾. En el proceso diagnóstico hay que considerar los mismos datos que cuando se estudian los ganglios linfáticos u otros tejidos, pero con algunos matices.

3.1. Datos proporcionados por la información clínica

Dado que en la mayor parte de los casos conoceremos el tipo de tumor que debemos buscar, ello

nos ayudará a planificar el estudio de la biopsia en varios aspectos. En primer lugar, si sabemos que se trata de un tumor que, con frecuencia, da lugar a un tipo de infiltración que puede ser difícil de identificar mediante el estudio histológico convencional (por ejemplo, infiltración por células aisladas, infiltración intersticial mínima), podemos planificar un estudio inmunohistoquímico que disminuya el riesgo de que esta infiltración pase desapercibida. En segundo lugar, en el contexto de linfomas B, es importante saber si el paciente ha sido tratado con anti-CD20, ya que en el panel de anticuerpos a utilizar en el estudio inmunohistoquímico deben incluirse marcadores adicionales para identificar las poblaciones B, como PAX5, CD79a, CD19 o CD22, que son marcadores que funcionan bien en las biopsias medulares. Finalmente, si se trata de un tipo de tumor que puede afectar de manera muy focal a la médula ósea (por ejemplo, linfoma de Hodgkin), puede ser conveniente realizar un estudio seriado de la muestra para reducir la posibilidad de un falso negativo.

3.2. Datos morfológicos

El estudio de secciones histológicas de buena calidad teñidas con hematoxilina-eosina es todavía la etapa más importante en el diagnóstico, pero hay que tener en cuenta que, a diferencia de lo que ocurre en los ganglios linfáticos, no es infrecuente que la infiltración tumoral de la médula ósea sea mínima y pueda pasar desapercibida. Por otra parte, los patrones arquitecturales que tan útiles resultan para tipificar los linfomas en los órganos linfoides secundarios con frecuencia se pierden cuando estas neoplasias infiltran la médula ósea. El estudio de improntas teñidas con May-Grünwald-Giemsa puede ser de ayuda en el diagnóstico.

3.3. Datos inmunohistoquímicos

Son muy importantes, ya que pueden permitir reconocer infiltraciones iniciales o residuales mínimas en el estudio de extensión de la enfermedad al

Tabla 1. Patrones de expresión antigénica más usuales en los linfomas B de células maduras

	CD79	CD20	CD23	CD10	BCL-2	BCL-6	CD5	CD43
LLC	+	+débil	+/-	-	+	+	+/-	+/-
LCM	+	+	-	-	+	-	+/-	+/-
LF	+	+	-/+	+/-	+/-	-	-	-
MALT	+	+	-	-	+	+/-	-	+/-
LZME	+	+	-	-	+	-	-	-/+
LLp	+	+	-	-	+	-	-	-/+
LBCG	+	+	-/+	-/+	+/-	+/-	-/+	-/+
L. de Burkitt	+	+	-	+	-	+	-	+

L. de Burkitt: linfoma de Burkitt; LBCG: linfoma B difuso de células grandes; LCM: linfoma de células del manto; LF: linfoma folicular; LLC: leucemia linfática crónica/linfoma linfocítico de células pequeñas; LLp: linfoma linfoplasmocítico; LZME: linfoma de la zona marginal esplénica; MALT: linfoma de la zona marginal extranodal

diagnóstico o la evaluación de respuesta al tratamiento. En estos casos, un estudio inmunohistoquímico adecuado puede mostrar, con facilidad y a pequeño aumento, lo que en secciones histológicas teñidas con hematoxilina-eosina puede requerir mucho tiempo de observación a gran aumento. Por otra parte, la pérdida de los patrones arquitecturales típicos hace que la información que proporcionan los estudios inmunohistoquímicos sea especialmente útil para tipificar un linfoma que todavía no esté diagnosticado. La **Tabla 1** muestra los perfiles inmunofenotípicos más usuales de los linfomas B.

Desde un punto de vista técnico, hay que tener en cuenta que, si las muestras han sido fijadas con soluciones que contienen mercurio, como el B5, algunas moléculas como CD5 o TdT no son reconocidas por los anticuerpos específicos. También hay que tener en cuenta que la médula ósea es un tejido muy rico en plasma, por lo que en los estudios de expresión de cadenas ligeras suele producirse mucha "tinción de fondo" que puede dificultar la interpretación de los resultados. Para evitar este problema, los anticuerpos primarios correspondientes (anti-cadenas kappa, anti-cadenas lambda) deben utilizarse de 2 a 4 veces más diluidos que en los ganglios linfáticos. Por tanto, es preciso adecuar los protocolos del laboratorio de inmunohistoquímica a las características de los procesos de fijación.

3.4. Datos proporcionados por el aspirado de médula ósea

La utilización simultánea de la información obtenida en los aspirados y la biopsia medulares es útil, rápida, barata y complementaria en la mayor parte de las enfermedades. La complementariedad entre los rasgos morfológicos observados en el aspirado junto a la arquitectura objetivada en la biopsia mejora la precisión diagnóstica. Adicionalmente, los estudios inmunofenotípicos realizados sobre los aspirados han mostrado una correlación excelente en linfomas B cuando se han comparado con los resultados observados sobre las biopsias de estudios de extensión, por lo que conocer esta información puede permitir optimizar la estrategia diagnóstica de la biopsia^(14,18).

3.5. Datos proporcionados por las técnicas de FISH (hibridación *in situ* fluorescente)

En las secciones histológicas de médula ósea, las técnicas de FISH se utilizan con menor frecuencia que en las de otros órganos linfoides por varias razones. La primera de ellas es de carácter técnico, ya que si se usan soluciones descalcificadoras a pH ácido (soluciones de ácido acético, fórmico, nítrico) se produce la degradación del ADN y el ARN, y estas soluciones son las que son usualmente más utilizadas. Por otra parte, no es infrecuente que también se utilicen fijadores mercuriales, con resultados similares. Estos problemas se pueden solventar fijando en formol tamponado a pH neutro y descalcificando con resinas de intercambio iónico, como el EDTA, tamponadas también a pH neutro. El control de los tiempos de fijación, asociado a los métodos adecuados de descalcificación, puede solventar los problemas técnicos de degradación de los ácidos nucleicos. El mayor inconveniente de este último método de descalcificación es que puede prolongarse durante varios días, lo que entorpece el diagnóstico de la biopsia. Sin embargo, nuevos protocolos que utilizan calor y controlan la temperatura pueden acelerar este proceso⁽¹⁹⁾. La otra razón por la que no suele utilizarse FISH en

secciones de médula ósea es porque en muchos casos el tumor ya ha sido tipificado y en otros la afectación es muy focal, por lo que, utilizando el microscopio de fluorescencia y una tinción nuclear como referencia, las zonas de interés pueden ser difíciles de evaluar. Las técnicas de FISH pueden realizarse también sobre improntas de la biopsia medular.

3.6. Datos proporcionados por los estudios moleculares

Los estudios moleculares son muy importantes en las lesiones con escasa infiltración medular en las que la morfología y el inmunofenotipo resultan insuficientes para establecer el diagnóstico diferencial entre cuadros reactivos y linfoma. En esta última década, el desarrollo de protocolos que han mejorado la preservación de la calidad del ADN ha incrementado la sensibilidad de los estudios moleculares en las biopsias medulares, si bien los mejores resultados se obtienen a partir de material en fresco, aspirado en el punto de obtención de la biopsia inmediatamente después de realizar la misma⁽²⁰⁻²²⁾.

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es útil en aquellos casos en los que, mediante el estudio histológico, se detecta infiltración linfoide y se plantean dudas acerca del carácter neoplásico de la misma. La situación en la que se obtiene mejor rendimiento de la técnica es aquella en la que se sospecha infiltración por un linfoma que presenta una translocación que ya ha sido identificada mediante PCR en el tejido extramedular. En esta situación, el estudio molecular puede ser muy útil, si bien debe conocerse que, en el contexto del estudio de translocaciones, la sensibilidad de las técnicas moleculares no es elevada debido a la variabilidad de los puntos de ruptura.

Por otra parte, si una sospecha de infiltración por linfoma ha de ser confirmada mediante un estudio de clonalidad, hemos de tener en cuenta que esta situación se plantea con más frecuencia en casos que desde un punto de vista cuantitativo presentan infiltración poco importante. En estos casos, si

el porcentaje de infiltración es inferior al 10% de la celularidad medular global, los resultados deben interpretarse con precaución y pueden aparecer falsos negativos y/o falsos positivos. Los primeros pueden ser resultado de una sensibilidad insuficiente de la técnica; los segundos pueden ser el resultado de que la PCR haya amplificado el ADN de poblaciones irrelevantes desde el punto de vista patológico (pseudoclonalidad). La pseudoclonalidad se puede detectar realizando los estudios por duplicado (en casos de pseudoclonalidad los resultados no suelen repetirse) y comprobando los resultados mediante PCR heterodúplex. La correlación entre los aspectos morfológicos y fenotípicos de la biopsia y los resultados moleculares es imprescindible para evitar errores diagnósticos. La presencia de monoclonalidad no es indicativa de linfoma y la incidencia de clonalidad no relacionada con linfoma se ha demostrado mayor en pacientes con enfermedades autoinmunes⁽²³⁾. Otros falsos positivos deben sospecharse en caso de disociación entre los pesos moleculares de la biopsia medular y de los tejidos con infiltración por linfoma, y también en el contexto de contaminación de la sangre medular por la sangre periférica.

4. El tejido linfoide normal

La médula ósea, a pesar de ser el órgano en el que se desarrolla una parte fundamental de la linfopoyesis primaria (linfopoyesis antígeno independiente), carece usualmente de tejido linfoide organizado. En condiciones normales, la población linfoide de la médula ósea se halla constituida por linfocitos pequeños y representa de un 10 a un 20% de la celularidad medular. Son predominantemente de fenotipo T (la proporción células CD3+/células CD20+ es de 3 a 1) y se identifican también células plasmáticas maduras (< 4% de la celularidad medular). En condiciones basales, la población linfoide medular no incluye un porcentaje significativo de células precursoras, por lo que la expresión de TdT solo se observa de manera ocasional en células aisladas. Conocer este dato es útil, desde un punto de vista diagnóstico, puesto que un aumento intersticial de células que expresan TdT debe considerarse sos-

Tabla 2. Rasgos diferenciales entre los agregados linfoides benignos y malignos de la médula ósea

Agregados linfoides benignos	Malignos
Pocos y distribuidos de modo irregular	Varios, frecuente distribución paratrabecular
Redondeados, bien circunscritos	Formas irregulares con infiltración intersticial del tejido adiposo adyacente
Composición celular heterogénea	Mayor monotonía; mayor atipia
Infiltración intrasinusoidal ausente	Presente
Puede haber centros germinales (CG)	CG infrecuentes (excepto en linfoma de la zona marginal esplénica)
Vasos prominentes	Vasos poco prominentes (excepto linfoma T)
Mezcla de células B y T sin anomalías fenotípicas	Predomina una población; fenotipos anómalos
Ausencia de clonalidad B o T	Presencia de clonalidad

pechoso de infiltración por leucemia/linfoma de células precursoras. Los linfocitos presentan una distribución intersticial y son poco aparentes al estar dispuestos de modo aislado entre la celularidad mieloide, que es la predominante. La población medular normal de linfocitos B pequeños maduros no suele expresar CD23 (solo se observa expresión en células aisladas) ya que este antígeno se adquiere cuando las células B vírgenes maduras abandonan la médula ósea. Este es un dato útil para el diagnóstico diferencial con la infiltración medular intersticial por LLC y un aumento intersticial de células CD23+ debe hacer sospechar esta enfermedad.

Las células plasmáticas presentan una distribución predominantemente perivascular. En condiciones normales expresan intensamente CD19, CD79a, CD38 y CD138, no expresan CD56 y muestran una expresión politépica de las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas (la proporción de células que expresan la cadena kappa con respecto a las que expresan la cadena lambda es superior a 1, pero inferior a 10). La presencia de alteraciones en la expresión de los marcadores de línea mencionados o la identificación de una población monotípica de células plasmáticas (cociente entre ambos tipos de células superior a 10) debe hacer sospechar infiltración por un proceso linfoproliferativo con diferenciación plasmocelular (mieloma, linfoma linfoplasmocítico –LLp–, etc.). Asimismo, en condiciones normales predominan las células plasmáticas productoras de IgG, por lo que un predominio de células plasmáticas productoras de otro tipo de cadena pesada debe analizarse de manera cuidadosa.

5. Agregados linfoides benignos

La presencia de agregados linfoides benignos aumenta a partir de los 50 años y se observa también en el contexto de enfermedades autoinmunes, neoplasias mieloproliferativas, síndromes mielodisplásicos e infecciones. El diagnóstico diferencial con la presencia de infiltración por un proceso linfoproliferativo puede ser difícil y el contexto clínico y los rasgos morfológicos, fenotípicos y moleculares son importantes para establecer un diagnóstico adecuado. La [Tabla 2](#) muestra características que pueden ayudar en el diagnóstico diferencial.

6. Incidencia de infiltración de la médula ósea por linfoma y patrones de infiltración

La incidencia global de infiltración de la médula ósea por linfoma es de un 35-50% y la incidencia específica se correlaciona con el tipo histológico de linfoma ([Tabla 3](#))⁽²⁴⁾. Por ejemplo, el LCM infiltra la médula en más del 95% de los casos, mientras que la LLC y el LF lo hacen en un 85 y un 60%, respectivamente. En relación con los linfomas B agresivos, el LNHDCGB muestra una afectación medular en un 15-30% de los casos y el linfoma de Burkitt en un 35-60%⁽²⁴⁻²⁶⁾. En cuanto a los linfomas T, la incidencia es variable y se relaciona también con el tipo histológico, si bien globalmente la infiltración medular ocurre en un 80% de los casos. La [Tabla 4](#) muestra las entidades descritas en el capítulo.

Tabla 3. Frecuencia de afectación de la médula ósea y patrones de infiltración más usuales en los linfomas B más frecuentes y en el linfoma de Hodgkin

	Frecuencia	Patrón de infiltración
Leucemia linfática crónica/Linfoma linfocítico de células pequeñas	60-90%	INT, N, D
Linfoma de células del manto	80-90%	INT, N
Linfoma linfoplasmático/Macroglobulinemia de Waldenström	80%	INT, P
Linfoma de la zona marginal esplénica	80%	INT, N, IS
Linfoma de la zona marginal extranodal	20-35%	INT, N, P
Linfoma de la zona marginal ganglionar	50-85%	INT, N
Linfoma folicular	50-60%	P, D, N
Tricoleucemia	> 95%	INT, N, D
Linfoma B difuso de células grandes	15-30%	INT, N, D
Linfoma de Burkitt	30-60%	D, INT
Linfoma linfoblástico B	50%	D, INT
Linfoma de Hodgkin	5-15%	N, D

D: difuso; INT: intersticial; IS: intrasinusoidal; N: nodular; P: paratrabecular

Tabla 4. Frecuencia de afectación de la médula ósea y patrones de infiltración más usuales en los linfomas T más frecuentes

	Frecuencia	Patrón de infiltración
Leucemia de células T grandes granulares	> 95%	INT, IS
Leucemia prolinfocítica T	> 95%	INT, N, D
Linfoma T hepatoesplénico	> 95%	IS, INT
Leucemia agresiva de células NK	> 95%	INT, N, D
Linfoma T angioinmunoblástico	60-70%	N
Linfoma anaplásico de células grandes sistémico	15-25%	INT, IS, N
Linfoma T periférico no especificado	20-40%	INT, N, D
Micosis fungoides	< 5%	INT
Linfoma linfoblástico T	50-60%	N, D

D: difuso; INT: intersticial; IS: intrasinusoidal; N: nodular

La presencia de infiltración se considera enfermedad diseminada y representa un estadio IV de enfermedad^(24,27). Sin embargo, la mera presencia de un linfoma indolente en la médula ósea no implica un peor pronóstico de la enfermedad, siendo la extensión de la infiltración el factor con mayor impacto pronóstico^(28,29).

La infiltración medular por los linfomas puede dar lugar a diversos patrones histológicos. Estos

patrones no son específicos de ninguna entidad determinada, si bien cada tipo de linfoma presenta unos patrones infiltrativos más frecuentes que otros y pueden ser de ayuda en el diagnóstico. Por otra parte, es posible identificar varios patrones combinados en una misma biopsia. Se distinguen los siguientes patrones: infiltración por células aisladas, infiltración intersticial, intravascular, difusa, nodular e infiltración paratrabecular (Figura 1).

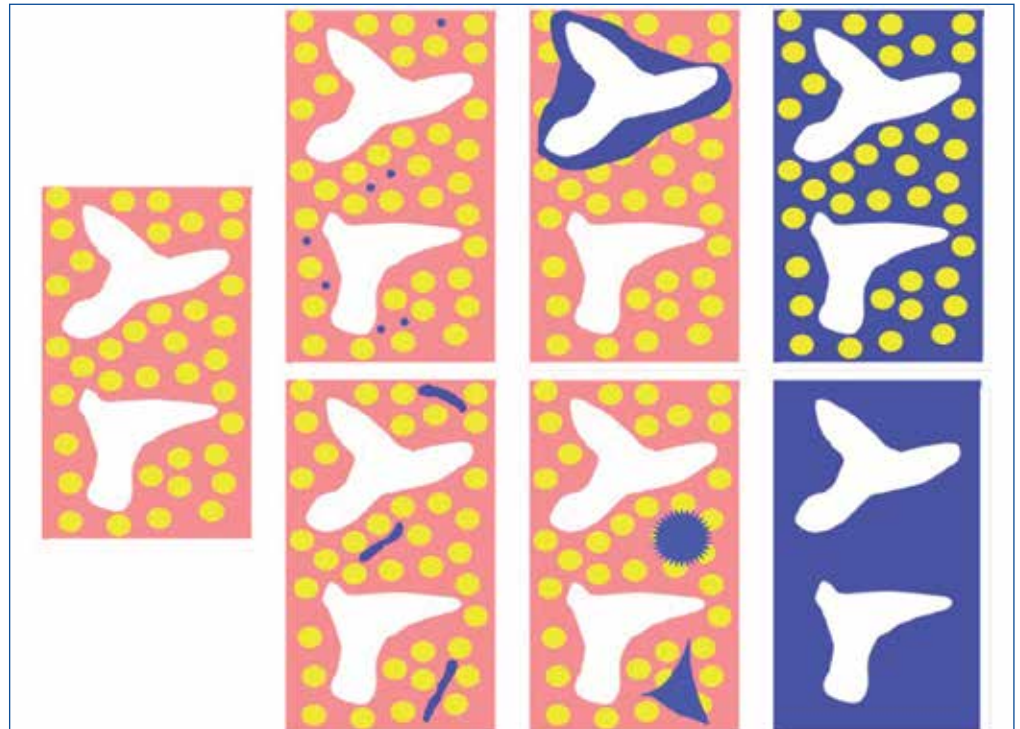
6.1. Infiltración por células aisladas

Este tipo de infiltración es morfológicamente la más difícil de detectar y suele requerir del estudio inmunohistoquímico. Los linfomas que con más frecuencia dan lugar a este tipo de infiltración son el linfoma anaplásico de células grandes ALK negativo o positivo (estudiar la expresión de CD30 y/o ALK), el linfoma B difuso de células grandes con morfología anaplásica (estudiar la expresión de CD30 o marcadores de línea B), el linfoma B de células grandes CD5+ (estudiar la expresión de marcadores B y CD5) y el linfoma T/NK de tipo nasal (estudiar, mediante hibridación *in situ*, la presencia de células con ARN del virus de Epstein-Barr –VEB–).

6.2. Infiltración intravascular

Las células tumorales crecen en el interior de los sinusoides medulares. Este patrón se observa especialmente en linfomas en los que las células tumorales tienen dificultades para atravesar la pared vascular, en general por carecer de los receptores necesarios para ello. Si la infiltración

Figura 1. Preparación histológica con 2 trabéculas (blanco), médula ósea hematopoyética (rojo) y adipocitos (amarillo). Fila superior, de izquierda a derecha: infiltración por células aisladas, paratrabecular e intersticial; fila inferior: sinusoidal, nodular (con formas variables de los nódulos) y difusa.



intravascular es masiva no es difícil de detectar, ya que las células tumorales rellenan los sinusoides y los expanden, lo que produce la impresión de que la médula ósea se halla infiltrada por “cordones” de células tumorales. El hecho de que las “áreas” de infiltración intravascular se hallen delimitadas por endotelio determina que posean unos contornos bien definidos y que no se amolden a los adipocitos, lo que ayuda a distinguir este tipo de infiltración de la intersticial. Si la infiltración intravascular es poco importante, las células tumorales se disponen en “fila india” sin distender los sinusoides y puede ser difícil de distinguir de la infiltración intersticial. En estos casos, el estudio inmunohistoquímico es muy útil para efectuar esta distinción, ya que en los casos de infiltración intravascular mínima pone de manifiesto la presencia de “filas rígidas” de células linfoides que no siguen el contorno de los adipocitos adyacentes. Los linfomas que con más frecuencia dan lugar a este tipo de infiltración son el linfoma de la zona marginal esplénica (LZME), la tricoleucemia, el linfoma anaplásico de células grandes, el linfoma T hepatoesplénico y el linfoma intravascular de células grandes B o T.

6.3. Infiltración intersticial

Se caracteriza por la presencia de grupos de células tumorales que se disponen entre los adipocitos, por lo que este patrón de infiltración no altera de manera significativa la arquitectura medular. Si el porcentaje de células tumorales es bajo, pueden formar grupos discontinuos de 1 o 2 células de espesor que se amoldan al contorno de los adipocitos. En estas condiciones y al igual que ocurre en la infiltración por células aisladas, la infiltración intersticial puede ser difícil de identificar en preparaciones teñidas con hematoxilina-eosina, ya que las células tumorales no llaman la atención al estar distribuidas entre las células mieloides. En estas circunstancias, el estudio inmunohistoquímico puede facilitar el diagnóstico y además permite evaluar con facilidad y precisión el porcentaje de infiltración. La infiltración intersticial puede presentarse en la mayoría de los linfomas, pero es más frecuente en la fase inicial de los procesos con expresión leucémica (por ejemplo, LLC, LZME, tricoleucemia, leucemia/linfoma de células precursoras B o T) y en el mieloma múltiple. En los procesos más agresivos la afectación intersticial se convierte en un corto espacio de tiempo en afectación difusa.

6.4. Infiltración difusa

La infiltración tumoral sustituye zonas extensas de la médula ósea (células hematopoyéticas y adipocitos medulares). La infiltración difusa es, en la mayoría de los casos, el resultado de la progresión de una infiltración intersticial previa. La infiltración difusa se distingue de la intersticial porque en esta última las células tumorales sustituyen de manera progresiva a las hematopoyéticas y rodean a los adipocitos pero sin destruirlos. La infiltración difusa se observa en los estadios avanzados de los linfomas indolentes (LLC, LF, linfoma del manto, LLp, tricoleucemia) y en los linfomas agresivos.

6.5. Infiltración nodular

Las células tumorales forman uno o varios nódulos de localización intertrabecular en el seno de la médula ósea hematopoyética. Los nódulos linfoides de pequeño tamaño pueden ser tumorales o de origen reactivo, mientras que los de gran tamaño suelen ser tumorales (una excepción la constituyen los grandes centros germinales que pueden observarse en la médula ósea de enfermos infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana –VIH– que no hayan recibido medicación antirretroviral y que se hallan en las fases iniciales del desarrollo del proceso de inmunodeficiencia). Si los nódulos, aunque sean de pequeño tamaño, son numerosos y/o de límites imprecisos hay que sospechar que sean de origen neoplásico. Los límites poco definidos son el resultado de que las células linfoides situadas en la periferia de los nódulos tumorales se extiendan a distancia entre los adipocitos medulares, lo que confiere a estos nódulos un aspecto estrellado, mientras que los nódulos de tipo reactivo suelen tener un contorno más preciso. Estas diferencias se ponen especialmente de manifiesto en el examen microscópico a pequeño aumento tras el estudio inmunohistoquímico. La infiltración focal nodular puede observarse en la mayoría de los linfomas B indolentes (en los LF la infiltración focal nodular es más frecuente en los que presentan diferenciación marginal y en los de alto grado), en el LNHDCGB,

en los linfomas T periféricos no especificados, en el linfoma T de tipo angioinmunoblástico y en el linfoma de Hodgkin. Un hecho de utilidad diagnóstica es que la mayoría de los linfomas que dan lugar a nódulos de forma más o menos esferoidal poseen escasas fibras de reticulina, mientras que el linfoma de Hodgkin y los linfomas T periféricos dan lugar a focos de infiltración de formas irregulares y presentan una proporción elevada de estas fibras.

6.6. Infiltración paratrabecular

Los focos de infiltración se sitúan en la interfase entre el endostio trabecular y la médula ósea hematopoyética y se extienden en superficie siguiendo esta interfase. En las secciones histológicas, el eje mayor de estos focos de infiltración coincide con la superficie trabecular y este aspecto permite distinguir la infiltración paratrabecular de los focos de infiltración nodular que secundariamente contactan con una trabécula. La detección de infiltrados linfoides de disposición paratrabecular es de gran valor diagnóstico porque en enfermos no tratados sugiere infiltración por linfoma incluso cuando la infiltración es de pequeño tamaño. En enfermos con linfomas B que han recibido tratamiento, los infiltrados paratrabeculares voluminosos indican tumor residual, pero los de pequeño tamaño pueden estar constituidos en su mayor parte por células T reactivas, asociadas o no al linfoma. En estos casos, es muy difícil decidir si existe o no tumor residual sin recurrir a la PCR aunque, como ya hemos mencionado, esta puede tener una sensibilidad limitada. Los linfomas que con mayor frecuencia dan lugar a infiltrados paratrabeculares son los LF, especialmente los de bajo grado. De hecho, toda infiltración linfoide paratrabecular debe hacer sospechar afectación medular por LF, aunque deben excluirse otras posibilidades. En raras ocasiones, otros linfomas como el LCM e incluso algunos linfomas T periféricos pueden dar lugar a infiltración paratrabecular, si bien en estos casos suele haber otros patrones asociados. También pueden observarse patrones disociados y la afectación tisular por un LNHDCGB puede presentar infiltrados paratrabeculares de linfocitos pequeños. Los datos

disponibles sugieren que los focos paratrabeculares corresponderían a la infiltración medular por un LF y que el LNHDCGB correspondería a la progresión ulterior de este LF^(24,30,31).

7. Infiltración medular por linfomas B y T

En este apartado se describen las características clínico-patológicas más relevantes de la infiltración medular por los linfomas. Las **Tablas 3 y 4** describen los patrones de infiltración medular más frecuentes de las entidades descritas. Se describen en primer lugar los linfomas en los que predomina una expresión leucémica y que en la edición anterior de este libro quedaron recogidas como enfermedades linfoproliferativas crónicas de expresión leucémica (ELPCEL). Se trata de un grupo de neoplasias linfoides en las que pueden existir adenopatías y masas tumorales pero cuya forma habitual de expresión es a través de la presencia de células neoplásicas en la sangre y habitualmente también en la médula. En muchos casos y en consonancia con el carácter a menudo indolente de estas enfermedades, la expresión leucémica no tiene significado de enfermedad avanzada, como ocurre en otras neoplasias hematopoyéticas. La **Tabla 5** recoge las principales formas de ELPCEL.

7.1. Leucemia linfática crónica/Linfoma linfocítico de células pequeñas

La LLC y el linfoma linfocítico de células pequeñas (LLCP) se consideran la misma enfermedad con distintas presentaciones clínicas. Se trata de una

neoplasia constituida por linfocitos pequeños de fenotipo B asociados a la presencia de prolinfocitos y parainmunoblastos, con formación de centros de proliferación y coexpresión de CD5 y CD23, que pueden identificarse en sangre periférica, médula ósea, bazo y ganglios linfáticos. Se ha establecido como criterio diagnóstico de LLC la presencia de más de $5 \times 10^9/L$ de linfocitos clonales con fenotipo de LLC en sangre periférica^(32,33). La afectación medular suele estar presente. El LLCP se considera si se identifica afectación ganglionar o extraganglionar en ausencia de expresión leucémica. En esta situación, suele reconocerse también infiltración de la médula ósea^(33,34).

La importancia de la biopsia medular en el espectro de la linfocitosis B monoclonal (LBM), LLC/LLCP viene dada por la observación de que dicha afección medular ocurre con patrones diferentes en distintos pacientes y que tales patrones poseen significado pronóstico, en particular en LLC/LLCP. Posiblemente, la clasificación en patrones de afectación medular más conocida es la descrita por los editores en 1977, que incluye 4 formas: intersticial, nodular, mixto y difuso⁽³⁵⁾:

- Patrón intersticial: en LLC/LLCP el grado de infiltración es variable y la celularidad hematopoyética normal puede estar conservada o ser algo escasa. En otros casos, el patrón es generalizado, en cuyo caso, sin discontinuidad, todo el intersticio se halla infiltrado (**Figuras 2 y 3**). En la LBM la infiltración puede presentarse a expensas de nódulos pequeños o como intersticial, que puede ser mínima⁽³⁴⁾.

- Patrón nodular: usualmente se observan nódulos intertrabeculares, con escasa extensión paratrabecular, sin centro germinal identificable, bastante bien delimitados del resto de la médula, que por lo demás es normal (**Figura 4**).

- Patrón mixto nodular e intersticial.

- Patrón difuso: se asocia a escasa preservación de la celularidad hematopoyética y la fibrosis puede ser más intensa. Pueden reconocerse prolinfocitos y centros de proliferación, igual que en las formas nodulares y mixtas (**Figura 5**).

Distintos trabajos ya clásicos han mostrado el significado biológico de los distintos patrones de infiltración medular por LLC. En ellos se observó una

Tabla 5. Linfomas con expresión predominantemente leucémica

Leucemia linfática crónica

Linfoma de la zona marginal esplénica

Tricoleucemia

Leucemia de células T grandes granulares

Leucemia prolinfocítica T

Leucemia agresiva de células NK

Leucemia/Linfoma T del adulto

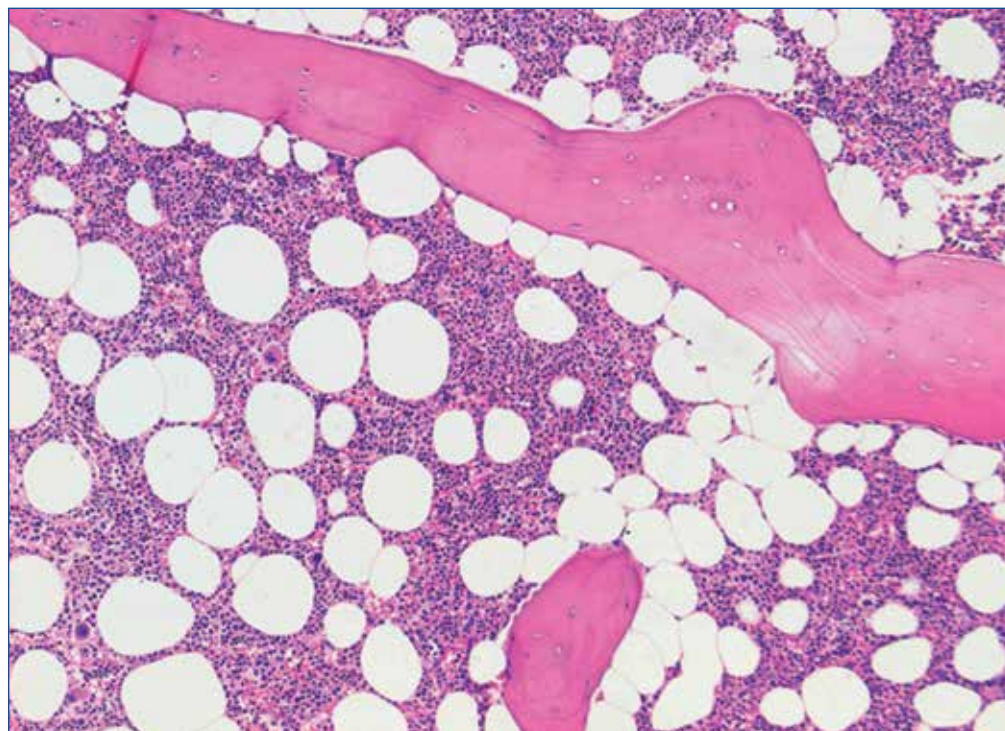


Figura 2. Infiltración intersticial por leucemia linfática crónica. A pequeño aumento es difícil identificar el infiltrado linfoide atípico (HE $\times 40$).

buena correlación con la clasificación en estadios de Rai, de forma que los patrones de menor carga tumoral correlacionan con los estadios precoces 0 y I, mientras que el patrón mixto y el difuso apare-

cen en los estadios avanzados III y IV. Asimismo, se identificaron diferencias significativas con impacto pronóstico en la duración de la supervivencia y se reconoció el valor pronóstico del carácter difuso del

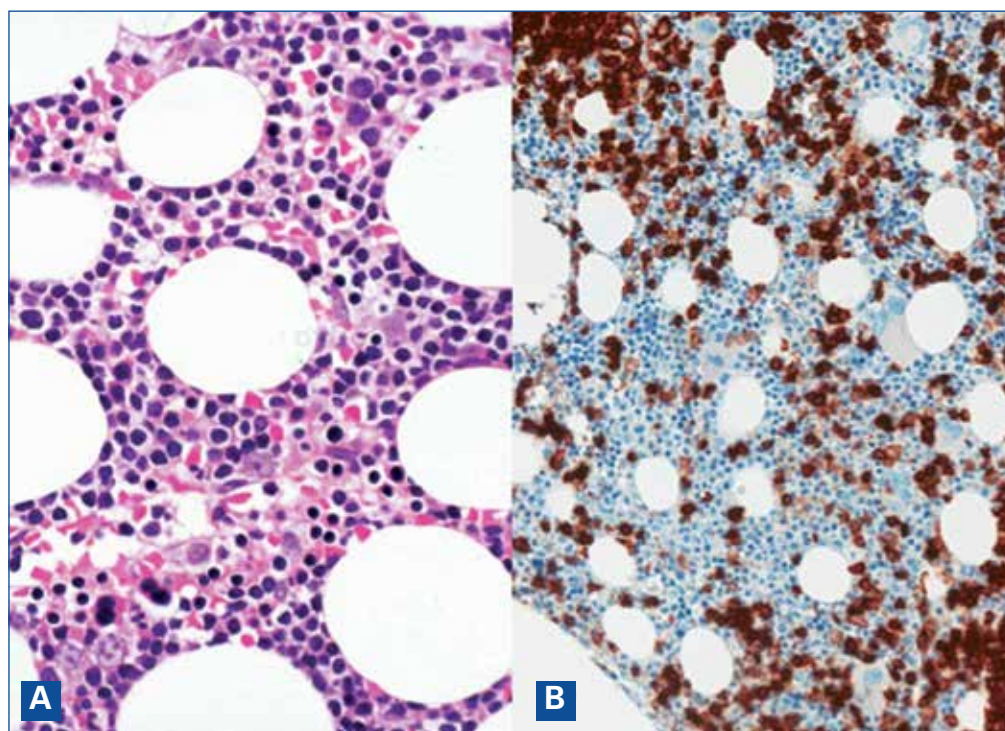


Figura 3. Infiltración intersticial por leucemia linfática crónica. El estudio inmunohistoquímico pone de manifiesto la población atípica (A: HE $\times 400$; B: CD20 $\times 200$).

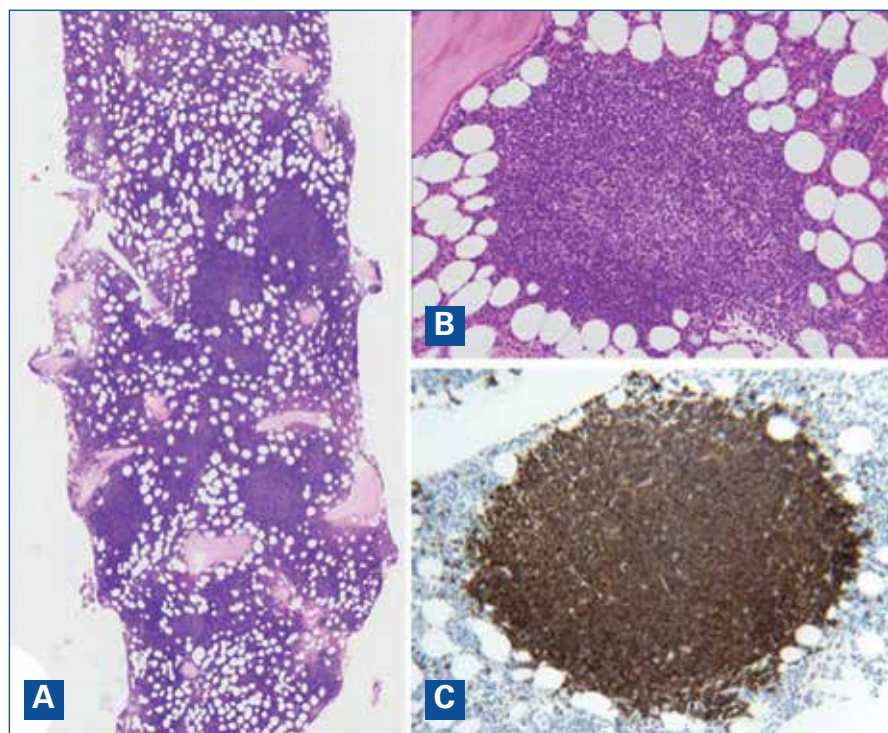


Figura 4. Infiltración nodular por leucemia linfática crónica. Se observan trabéculas óseas adelgazadas y múltiples nódulos bien delimitados (A: HE \times 20; B: HE \times 100; C: CD20 \times 100).

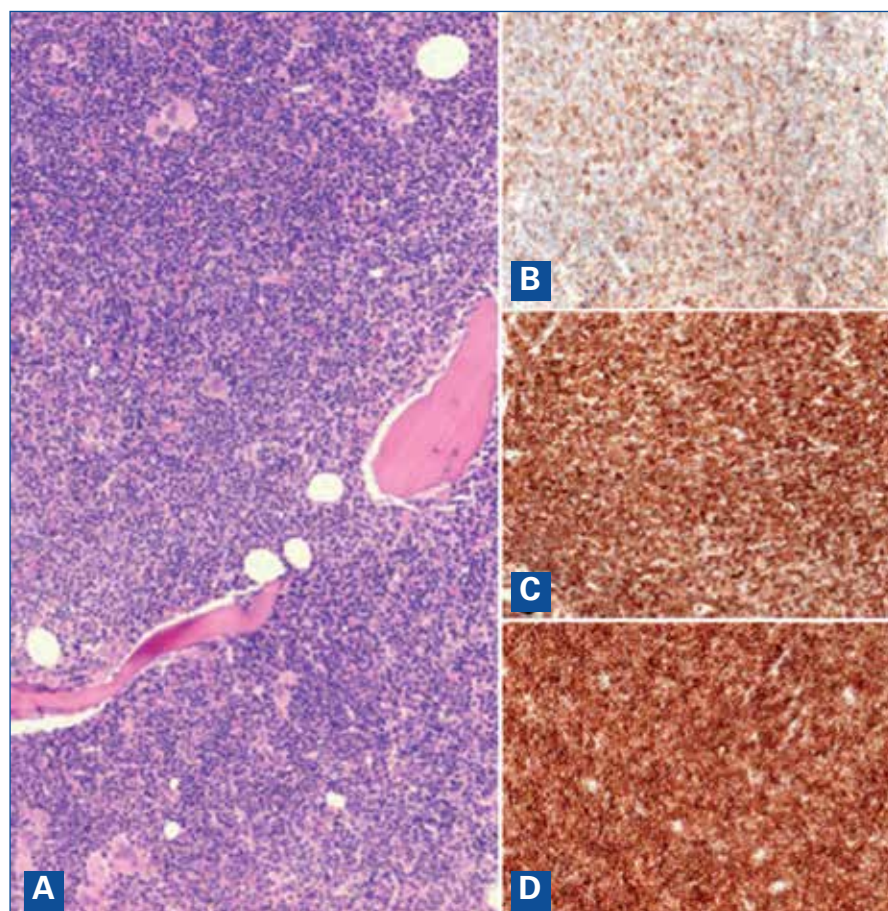


Figura 5. Infiltración difusa por leucemia linfática crónica con desaparición casi total de la celularidad hematopoyética (A: HE \times 20; B: CD20 \times 20; C: CD5 \times 20; D: CD23 \times 20).

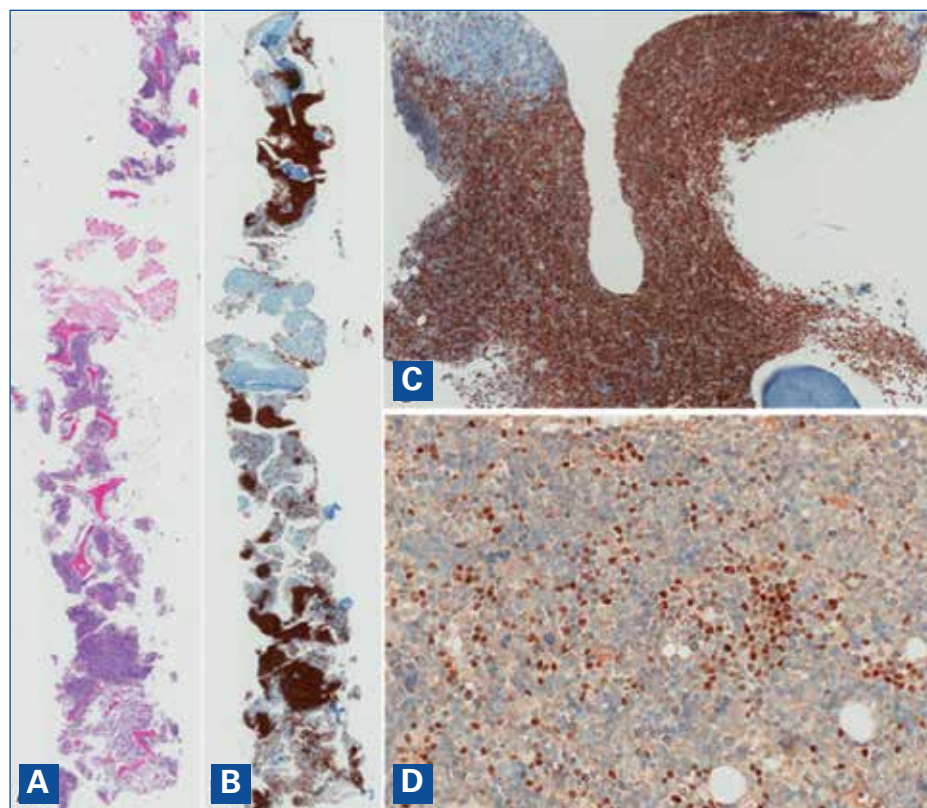


Figura 6. Linfoma de células del manto con patrones mixtos de infiltración medular (A: HE $\times 2$; B: CD20 $\times 2$; C: área paratrabecular, ciclina D1 $\times 40$; D: área intersticial, SOX11 $\times 200$).

patrón de infiltración, estableciéndose este patrón de afectación medular como uno de los criterios de enfermedad progresiva^(28,29,36-38).

La interpretación de las biopsias postratamiento es difícil. En la reevaluación postterapéutica se ha descrito la “remisión parcial nodular” (RPN), empleada para señalar aquellos casos previamente con patrón difuso que tras el tratamiento solamente presentan nódulos o infiltración intersticial. Se ha demostrado que la RPN corresponde a enfermedad mínima residual, aunque no se ha observado correlación con el tiempo de progresión de la enfermedad o la supervivencia global⁽³⁹⁾.

7.2. Linfoma de células del manto

EL LCM afecta a la médula ósea en un 80-90% de los casos⁽⁴⁰⁻⁴⁷⁾. Los patrones de infiltración son variables, predominando el patrón mixto, nodular e intersticial. En algunas ocasiones puede observarse una infiltración paratrabecular prominente⁽²⁾. Los rasgos citológicos del LCM son variables, si

bien usualmente se trata de una población de linfocitos hendidos de tamaño intermedio. Las formas blásticas de la enfermedad suelen presentar patrones intersticiales o difusos de infiltración (Figura 6)⁽³²⁾.

La variante histológica de células pequeñas muestra rasgos morfológicos superponibles a la LLC. El diagnóstico diferencial en esta situación es importante, ya que puede haber un solapamiento entre los rasgos clínicos, morfológicos e inmunofenotípicos de ambas entidades. Los LCM de células pequeñas pueden presentarse como enfermedad leucemizada, con esplenomegalia, escasa afectación nodal y comportamiento más indolente que las formas clásicas de LCM^(35,36). La posibilidad de utilizar ciclina D1 y SOX11 debería ayudar en el diagnóstico diferencial entre las 2 entidades, aunque la expresión de SOX11 suele ser negativa en las formas indolentes de la enfermedad⁽⁴²⁾. Asimismo, niveles elevados de CD200 se asocian más a LLC⁽³⁷⁾. La alteración genética característica en LCM es la translocación t(11;14)(q13;q32).

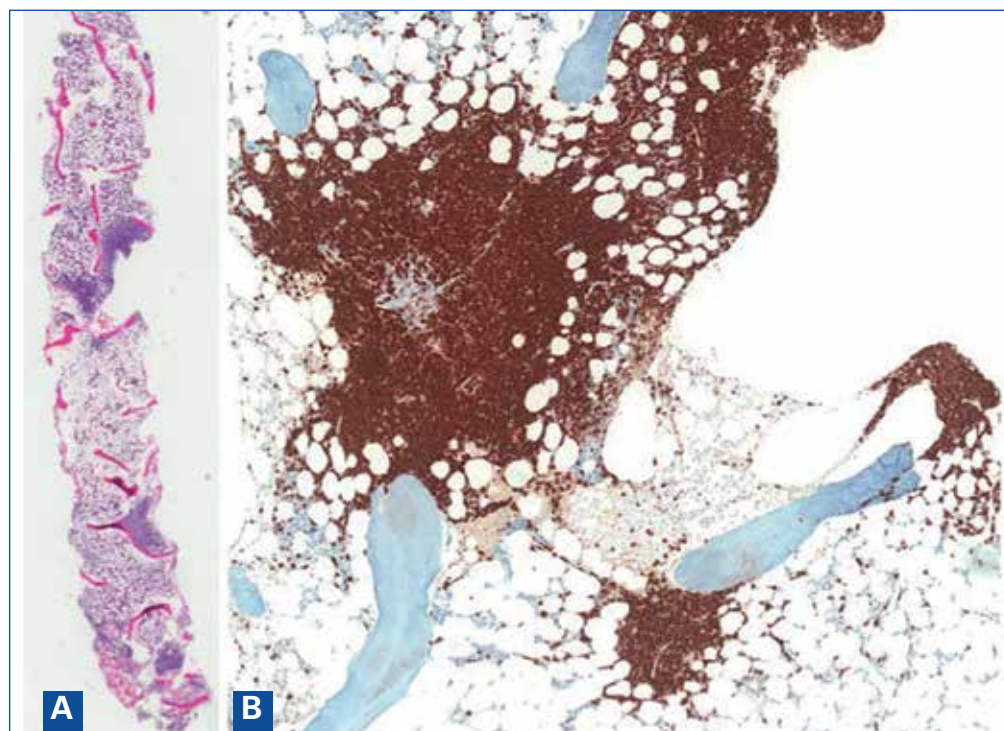


Figura 7. Infiltración nodular, paratrabecular e intersticial en linfoma linfoplasmocítico (A: HE $\times 2$; B: CD79a $\times 20$).

7.3. Linfoma linfoplasmocítico/Macroglobulinemia de Waldenström

El LLp se define como un linfoma B de linfocitos pequeños, linfocitos plasmocitoides y células plasmáticas que usualmente infiltra la médula ósea y, a veces, los ganglios linfáticos y el bazo, y no cumple criterios de otros linfomas B de bajo grado con diferenciación plasmocelular. La presencia de una paraproteína en suero no es un criterio necesario para establecer el diagnóstico de LLp, aunque suele existir en esta entidad. Los pacientes con LLp, afectación de médula ósea y componente monoclonal IgM a cualquier concentración se definen como macroglobulinemia de Waldenström (MW). Citológicamente, la proporción de células linfoides y plasmáticas es variable. Estas últimas pueden mostrar inclusiones intranucleares (cuerpos de Dutcher), que no son específicas y pueden reconocerse en otros linfomas con diferenciación plasmocelular. En LLp/MW es característica la presencia de numerosos mastocitos acompañantes. Asimismo, el inmunofenotipo de LLp/MW no muestra marcadores específicos y las células atípicas expresan marcadores de línea B, CD25, FMC7 e IgM. CD5, CD10 y CD23 son

usualmente negativos, aunque pueden expresarse hasta en un 10% de LLp/MW. Todas estas características no permiten diferenciar claramente LLp/MW de otros linfomas con diferenciación plasmocelular. Recientemente, se ha descrito la presencia de la mutación recurrente del gen *MYD88* en la posición L265P en más del 90% de los casos. Sin embargo, esta mutación se ha identificado hasta en un 10% de los linfomas de la zona marginal⁽⁴⁸⁾.

La infiltración de la médula ósea en LLp/MW es variable y en ocasiones difícil de identificar. La infiltración es usualmente intersticial y en una tercera parte de los casos puede haber infiltrados paratrabeculares y nodulares (Figura 7).

7.4. Linfoma de la zona marginal esplénica

El LZME es un linfoma B de bajo grado constituido predominantemente por una población de linfocitos pequeños que ocupa la zona marginal de la pulpa blanca esplénica, coloniza los folículos secundarios y se extiende a pulpa roja.

La afectación medular está presente en prácticamente todos los casos al diagnóstico y se detec-

ta con mayor precisión en las biopsias medulares que en los aspirados⁽⁴⁰⁾. Los patrones de afectación son usualmente mixtos, con mayor frecuencia nodular e intersticial. El patrón intrasinusoidal es típico de LZME, se identifica en aproximadamente un 70-80% de los casos y suele asociarse a la presencia de otros patrones de infiltración (**Figura 8**)^(40,43,49). Las biopsias medulares pueden mostrar centros germinales reconocibles con signos de colonización hasta en un 94% de los casos. La presencia de infiltración puede persistir durante el curso de la enfermedad, presentando habitualmente los mismos patrones histológicos que en el diagnóstico inicial.

7.5. Linfoma extraganglionar y ganglionar de la zona marginal

El linfoma MALT afecta territorios extraganglionares y suele presentarse en forma de enfermedad localizada. La incidencia de afectación medular es de un 20-35% y se correlaciona con el estadio de la enfermedad y parámetros relacionados (número de territorios extraganglionares y ganglionares

involucrados, presencia de esplenomegalia). Los patrones de afectación son usualmente mixtos, con mayor frecuencia nodular, intersticial y paratrabecular. Puede identificarse también afectación intrasinusoidal, aunque con menor incidencia que en LZME. Los rasgos citológicos son superponibles a los observados en los tejidos y es frecuente identificar un componente alto de células plasmáticas. La biopsia muestra mayor sensibilidad que los aspirados medulares asociados a la detección del inmunofenotipo por citometría. La presencia de células circulantes en sangre periférica es poco frecuente.

El linfoma de la zona marginal primario ganglionar comparte rasgos morfológicos y fenotípicos similares a linfoma MALT, pero una presentación clínica y un comportamiento biológico diferentes. La información acerca de la incidencia de infiltración medular y los patrones de afectación es menor, dada la menor prevalencia de la enfermedad. La incidencia de afectación medular varía entre un 50 y un 85% en los diferentes estudios. Los patrones de afectación más frecuentes son mixtos, nodular e intersticial. La afectación sinusoidal también se ha descrito⁽⁵⁰⁻⁵³⁾.

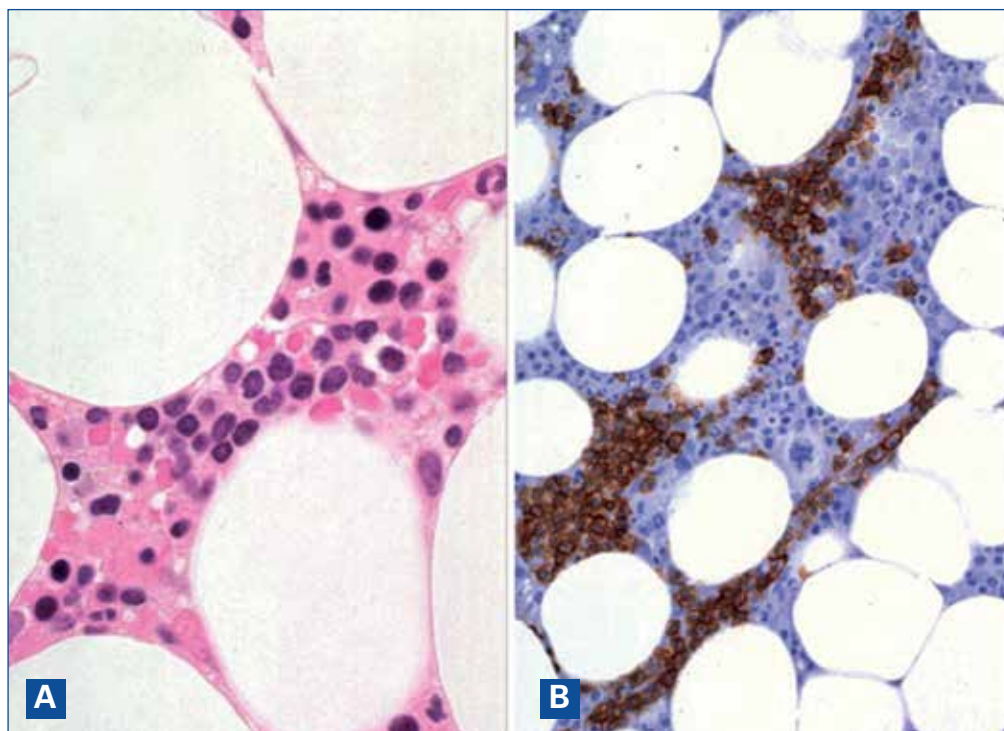


Figura 8. Infiltración intersticial e intrasinusoidal en linfoma de la zona marginal esplénica (A: HE $\times 400$; B: CD20 $\times 200$).

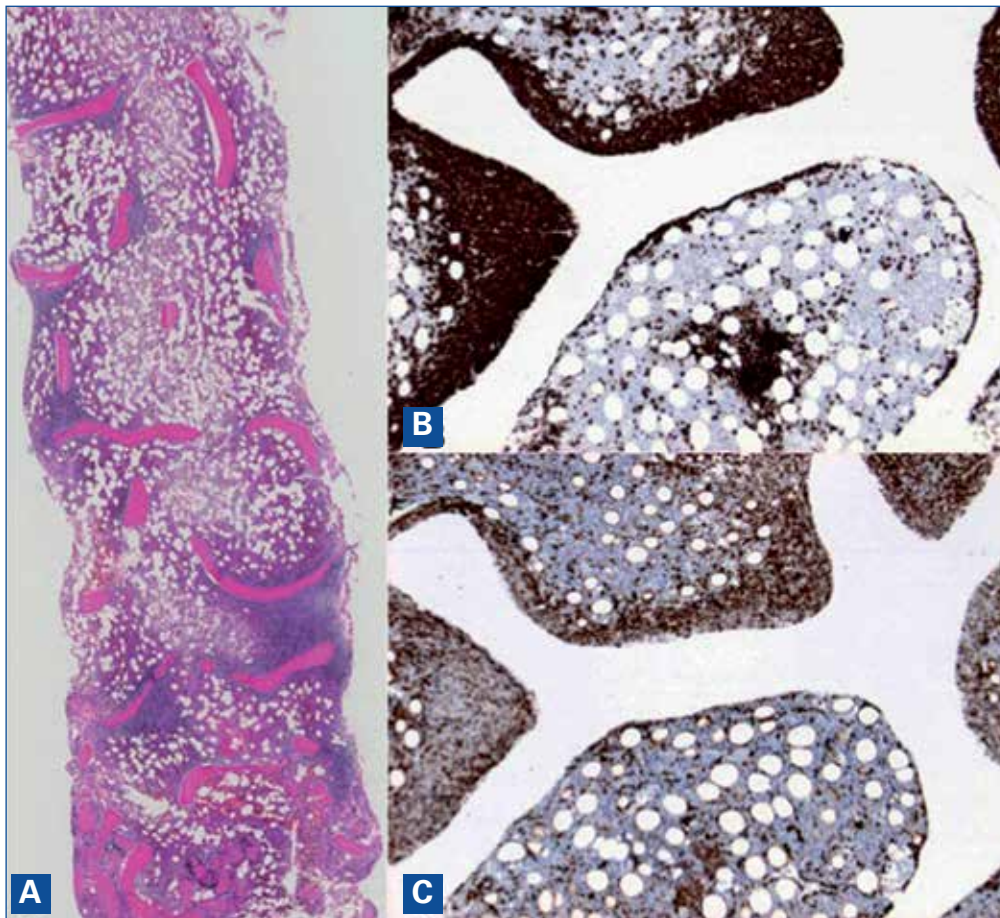


Figura 9. Infiltración paratrabecular por linfoma folicular (A: HE $\times 20$; B: CD20 $\times 40$; C: CD10 $\times 40$).

7.6. Linfoma folicular

El LF muestra infiltración de la médula ósea en un 50-60% de los casos en el momento del diagnóstico. Los infiltrados son típicamente paratrabeculares y pueden mostrar exclusivamente este patrón de infiltración (**Figura 9**). También pueden observarse patrones difusos y patrones nodulares centromedulares con formación o no de centros germinales reconocibles en ausencia de afectación paratrabecular, que puede causar que sean difíciles de diferenciar de infiltrados benignos (**Figura 10**)⁽²⁾. Citológicamente, los infiltrados están usualmente constituidos por linfocitos pequeños (centrocitos), entremezclados con una proporción variable de centroblastos. En aproximadamente un 20-40% de los casos según las series hay disociación entre la citología de la población del linfoma y su contrapartida medular, observándose usualmente componente de menor grado en la médula⁽²⁾. El pronóstico

de la afectación medular en LF, ya sea detectado histológicamente como por técnicas moleculares, empeora la supervivencia de los pacientes^(54,55).

Las variantes de LF correspondientes a LF primarios intestinales y LF pediátrico suelen presentarse como enfermedades localizadas y muestran una baja incidencia de afectación medular^(32,33).

7.7. Tricoleucemia

Se caracteriza por que sus células neoplásicas, de origen B, presentan como rasgo morfológico característico prolongaciones o vellosidades citoplasmáticas, a las que debe su nombre. Estos linfocitos vellosos muestran el siguiente fenotipo: CD20, CD19, CD25, CD11C, CD103, CD123+; CD5 y CD23-. Recientemente, se ha descrito la mutación *BRAF* V600E como una alteración específica de esta entidad⁽⁵⁶⁻⁵⁸⁾.

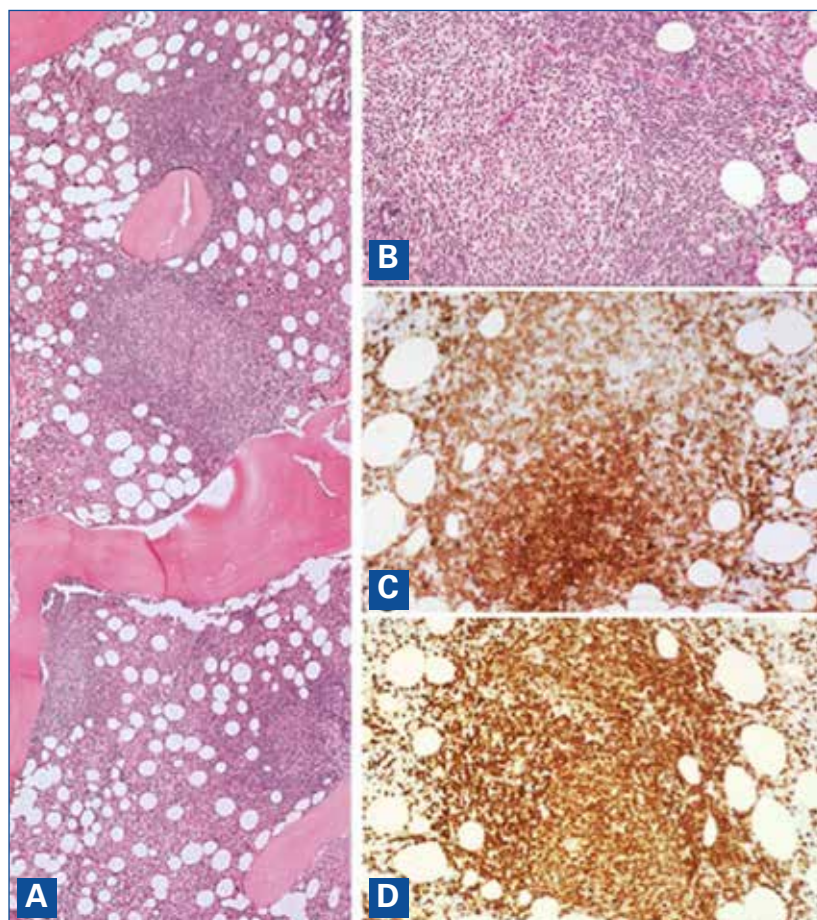


Figura 10. Infiltración paratrabecular y centromedular por linfoma folicular (A: HE \times 20; B: HE \times 40; C: CD10 \times 40; D: bcl-2 \times 40).

Junto a la leucemia existe afección medular que, debido a la fibrosis que suele acompañarla, depara aspirados infructuosos. Cursa generalmente con neutropenia con o sin otras citopenias, atribuidas a hiperesplenismo por esplenomegalia debida a la infiltración de este órgano; el hígado también se halla infiltrado.

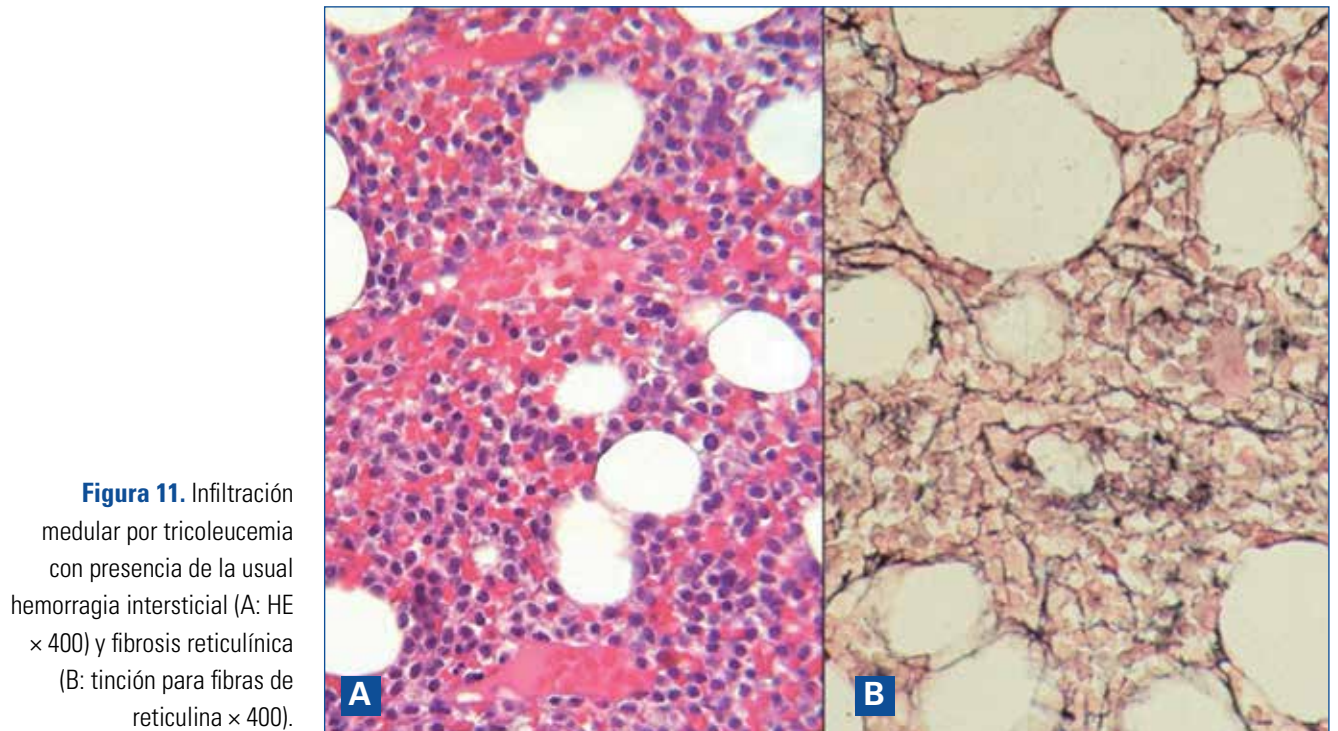
La BMO es aquí útil al permitir comprobar la existencia de un infiltrado linfoide intersticial, difuso o en grupos, característicamente poco denso, entremezclado con células hematopoyéticas. Al igual que otros linfomas que presentan esplenomegalia y afectación de sangre periférica, la infiltración sinusoidal es identificable, aunque con menor frecuencia que en LZME. Las células son pequeñas, algo más grandes e irregulares histológicamente que las de la LLC, y muestran un halo claro alrededor del núcleo. Las proyecciones “vellosas” citoplasmáticas no son visibles en la biopsia medular. La celularidad hematopoyética acompañante mues-

tra un predominio eritroide. Es casi constante una significativa fibrosis responsable de los aspirados blancos (Figuras 11 y 12)^(57,59).

El volumen medular ocupado por tricoleucocitos es importante para el diagnóstico y la monitorización de la enfermedad.

7.8. Linfomas B de alto grado (linfoma no Hodgkin difuso de células grandes B y linfoma de Burkitt)

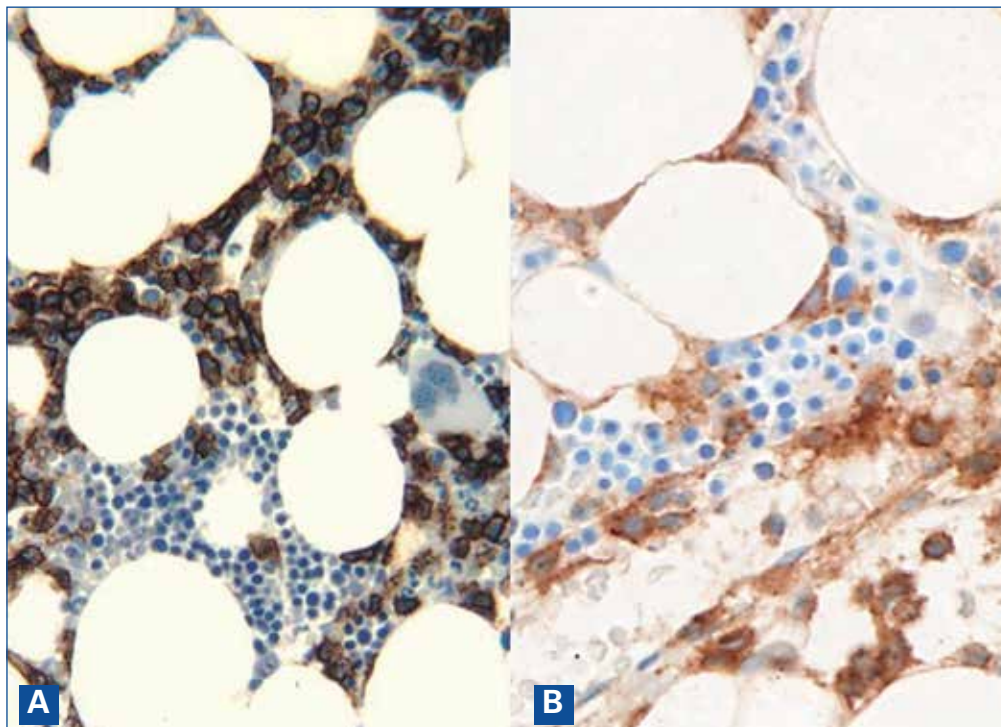
El LNHDCGB muestra una afectación medular al diagnóstico en aproximadamente un 15 al 30% de los casos^(2,60-62). Los patrones de infiltración son variables, siendo frecuentes los patrones mixtos nodular e intersticial. Los patrones de infiltración difusos, en los que puede observarse una sustitución masiva de la celularidad hematopoyética, son significativamente más frecuentes en LNHDCGB y



en linfoma de Burkitt que en otros tipos histológicos (Figura 13)⁽²⁾.

En un porcentaje muy variable de casos, según las series publicadas en la literatura (desde el 8 has-

ta el 70%), se observa una disociación histológica entre la celularidad medular y la de la neoplasia extramedular^(63,64). En esta situación, se reconoce una población de células pequeñas infiltrando la médula



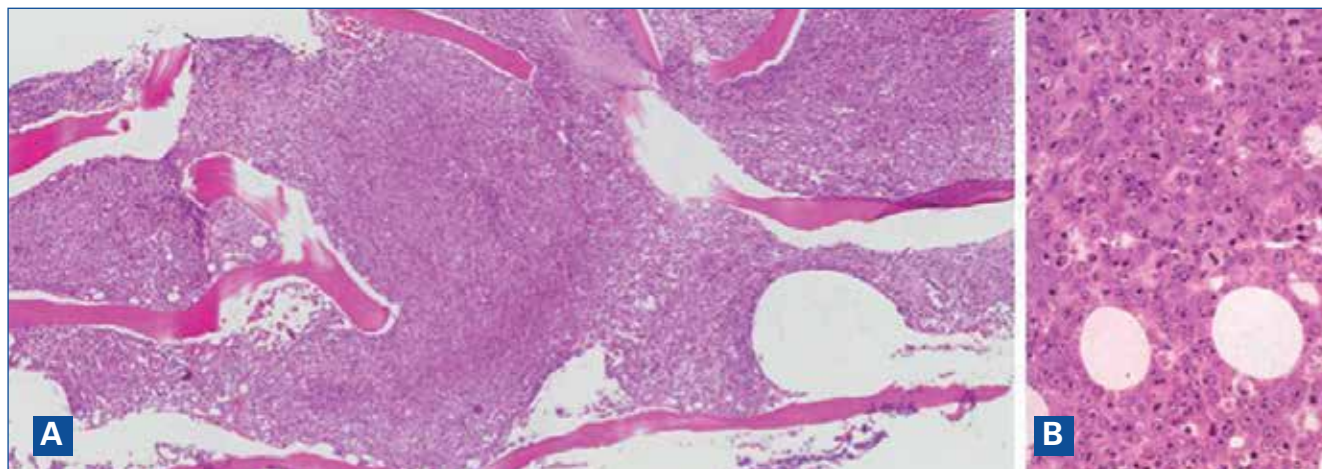


Figura 13. Infiltración medular por linfoma difuso de células grandes de fenotipo B (A: HE $\times 20$; B: HE $\times 200$).

la ósea, mientras que en los territorios extramedulares se identifica linfoma B de células grandes convencional. Esta discordancia ha sido reportada como de causas heterogéneas y su interpretación se ha refinado gracias a la ayuda de las técnicas genéticas y moleculares complementarias⁽⁶⁵⁾. En los estudios más recientes se ha observado que la infiltración medular y la extramedular pueden estar clonalmente relacionadas o no; el primer supuesto debe interpretarse como la transformación de un linfoma de más bajo grado en el que se identifica infiltración medular a un LNHDCGB, mientras que el segundo debe sugerir la coexistencia de 2 linfomas diferentes (bajo y alto grado, no relacionados clonalmente)⁽⁶⁶⁾. El pronóstico de la afectación medular en LNHDCGB, ya tenga morfología discordante o no, empeora la supervivencia de los pacientes, habiéndose constatado este pronóstico desfavorable tanto en pacientes tratados en la época previa a la utilización de inmunoterapia como en la posterior^(60,64). En este sentido, la sustitución de la biopsia medular en LNHDCGB por pruebas de imagen como la PET-scan no permitiría detectar a los pacientes con infiltración medular por poblaciones de bajo grado, menos proliferativas y, por tanto, menos detectables con estas técnicas⁽⁶⁶⁾.

El linfoma de Burkitt infiltra la médula en un 30-60% de los casos. Usualmente, los patrones de infiltración son intersticiales o difusos, predominando el segundo (**Figura 14**)⁽²⁾. La presencia de necrosis es frecuente⁽⁶²⁾. De entre otros tipos de linfomas de

alto grado, en el linfoma intravascular se observa característicamente infiltración intrasinusoidal en la mayor parte de los casos; en el LNHDCGB CD5 positivo se observa también infiltración medular en aproximadamente un 30% de los casos, principalmente intrasinusoidal^(67,68); en el linfoma B rico en células T e histiocitos puede observarse afectación medular en hasta un 60% de los casos y los rasgos morfológicos plantean el diagnóstico diferencial con linfoma T y linfoma de Hodgkin clásico (LHc)⁽³²⁾. En LNHDCGB primario mediastínico se observa infiltración medular en hasta un 9% de los casos⁽⁶⁹⁾.

7.9. Linfomas T y NK

Los linfomas T de células maduras (linfomas T periféricos) representan menos del 10% de los linfomas no Hodgkin en los países occidentales. La frecuencia de infiltración medular se relaciona con el subtipo histológico. De modo similar a los linfomas B, los linfomas T leucemizados, como la leucemia de células T grandes granulares, la leucemia prolinfocítica T y el linfoma T hepatoesplénico, infiltran la médula prácticamente siempre. Los patrones infiltrativos de estas entidades son diferentes. En la leucemia de células T grandes granulares se identifican patrones intersticiales e intrasinusoidales y es frecuente la presencia de agregados linfoides reactivos acompañantes. La leucemia prolinfocítica T muestra patrones variables de infiltración, intersticial, nodular y

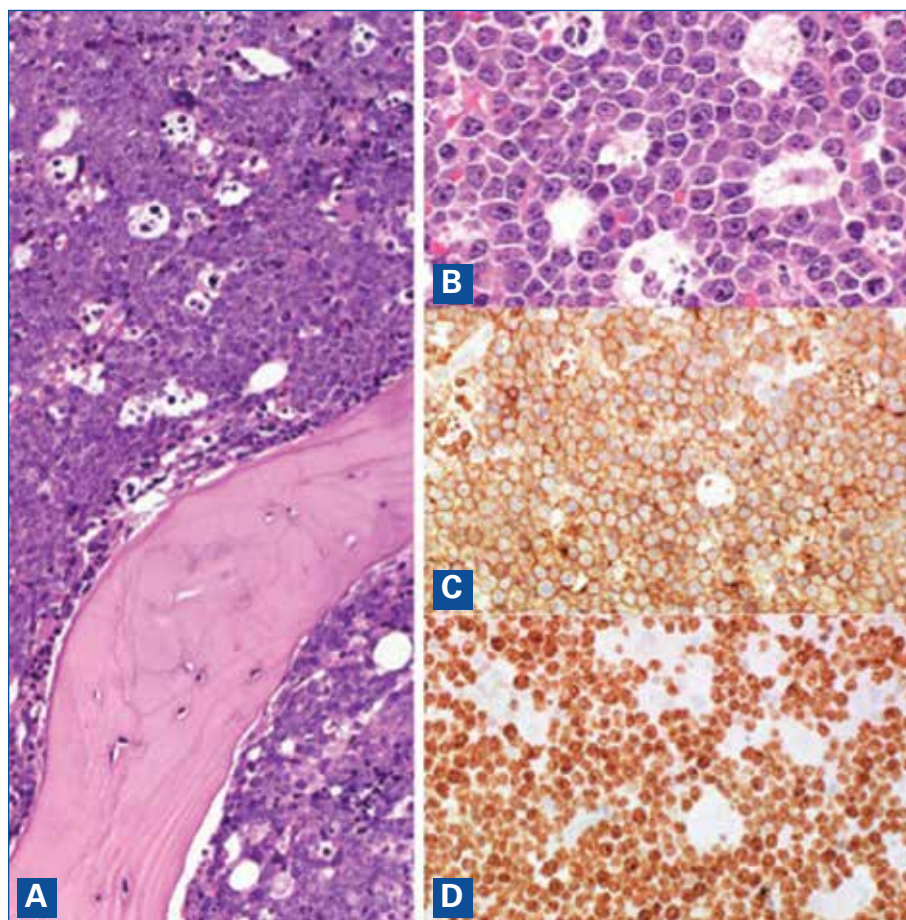


Figura 14. Infiltración medular difusa por linfoma de Burkitt (A: HE \times 200; B: HE \times 400; C: CD10 \times 200; D: Ki-67 \times 200).

difuso, siendo los 2 últimos los más frecuentes⁽⁷⁰⁾. La afectación intrasinusoidal es característica del linfoma T hepatoesplénico, si bien se ha descrito también infiltración intersticial en algunos casos⁽⁷¹⁾. En la leucemia agresiva de células NK los patrones también pueden variar desde infiltraciones sutiles intersticiales o nodulares a patrones más difusos⁽³²⁾.

El linfoma T angioinmunoblástico infiltra la médula ósea en un 60-70% de los casos⁽⁶¹⁾. Los infiltrados son usualmente "parcheados," con formación de nódulos centromedulares más que paratrabeculares, y muestran unos márgenes irregulares e infiltrativos, con aumento de la vascularización y fibrosis. La citología es variable y polimorfa, y puede identificarse un número muy elevado de células plasmáticas que puede plantear el diagnóstico de linfoma B. La detección de linfocitos T CD10 positivos y la expansión de células foliculares dendríticas es inusual en la médula ósea⁽⁷¹⁾. La expresión de PD1, CXCL13, ICOS o BCL6 no está bien carac-

terizada en las biopsias medulares. Los aspirados medulares son usualmente hipercelulares y pueden mostrar un aumento de las series mieloide, eritroide y linfoide, con incremento de células con diferenciación plasmocelular. En las extensiones de sangre periférica es frecuente encontrar anemia (80%), neutrofilia (50%) y aumento de células con diferenciación plasmocelular (30%).

El linfoma anaplásico de células grandes muestra infiltración medular en un 15-25% de los casos con patrones variables, intersticial, intrasinusoidal y nodular, que puede ser masiva (Figura 15)^(71,72). La biopsia medular en linfoma anaplásico de células grandes primario cutáneo suele ser negativa y no es necesario realizarla como maniobra de estadificación en los pacientes con esta enfermedad⁽⁷³⁾.

Los linfomas T periféricos representan un grupo heterogéneo de linfomas con características clínico-patológicas variables. La incidencia de infiltración medular varía según las series y se sitúa

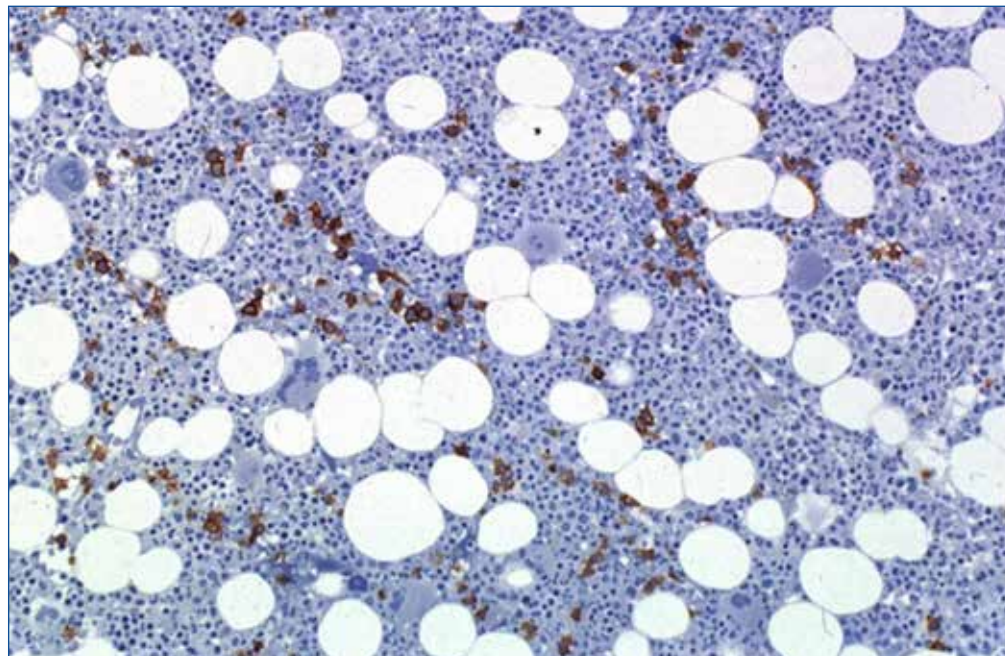


Figura 15. Infiltración intravascular en linfoma anaplásico de células grandes (CD30 \times 200).

globalmente en un 20-40%. Los patrones de infiltración son asimismo variables y, desde el punto de vista morfológico, la histología medular es similar a la de la afectación extramedular (**Figura 16**)⁽⁶²⁾.

Los linfomas T primarios extraganglionares como las micosis fungoides, el linfoma T subcu-

táneo de tipo paniculítico, el linfoma anaplásico de células grandes primario cutáneo, el linfoma T asociado a enteropatía o el linfoma NK/T extranodal de tipo nasal, muestran una baja incidencia de infiltración medular, inferior al 5% de los casos⁽⁷¹⁾.

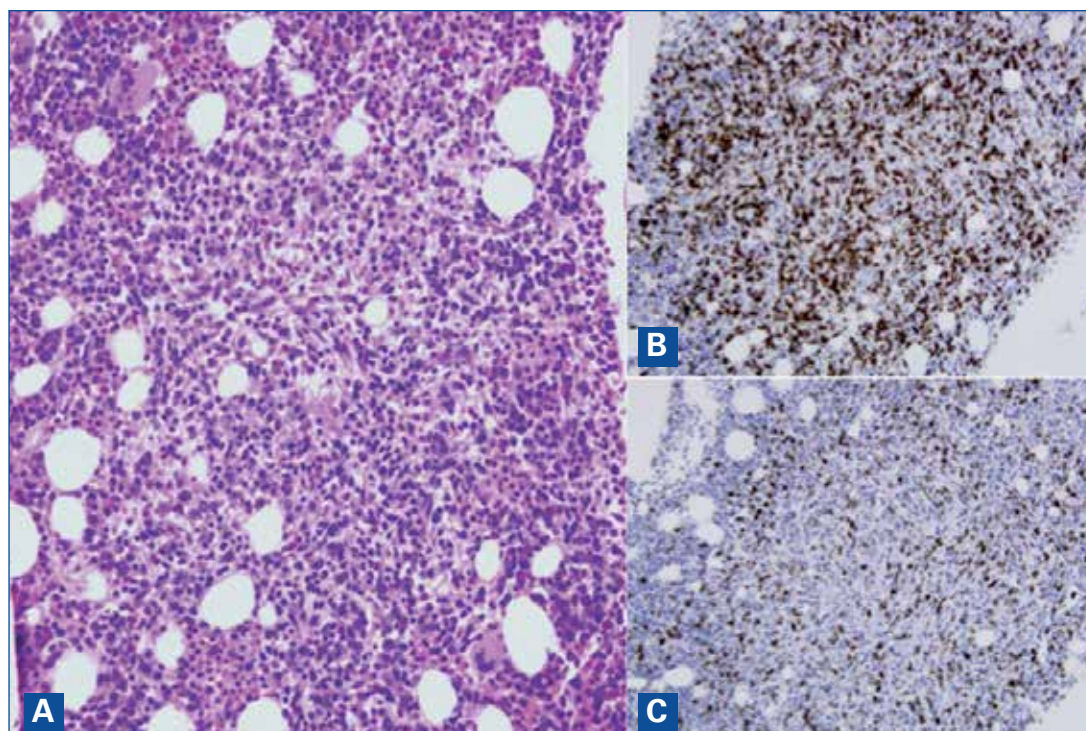


Figura 16. Infiltrado linfoide polimorfo con numerosos eosinófilos y fibroblastos, expresión de CD3 y pérdida parcial de CD7 en linfoma T periférico, no clasificable (A: HE \times 200; B: \times 100; C: CD7 \times 200).

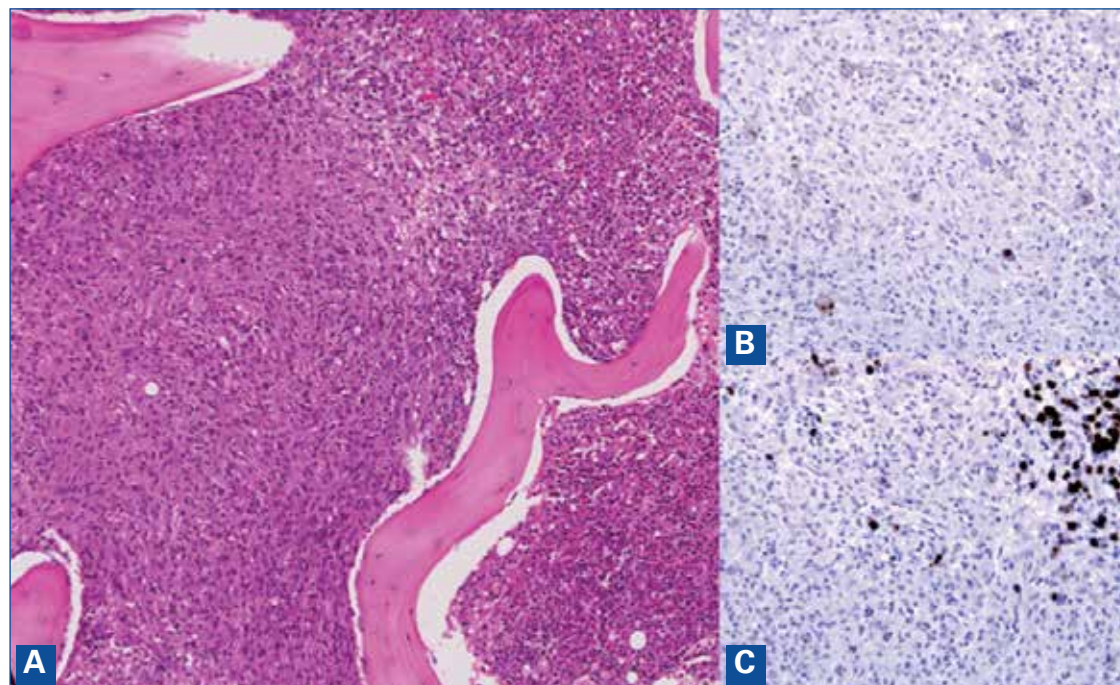


Figura 17. Infiltración difusa en linfoma de Hodgkin clásico en un paciente con inmunodepresión (A: HE $\times 40$; B: CD30 $\times 40$; C: CD15 $\times 40$).

7.10. Linfoma de Hodgkin clásico

El LHC representa aproximadamente un 30% de todos los linfomas⁽³²⁾. Su incidencia es bimodal y se presenta en pacientes jóvenes y en edades avanzadas. La incidencia de afectación de la médula ósea es de aproximadamente un 5-10%. Las formas histológicas con menor carga tumoral como LHC rico en linfocitos y LHC de tipo esclerosis nodular muestran una incidencia de infiltración medular inferior al 5-10%, mientras que se incrementa en las formas histológicas del tipo celularidad mixta y depleción linfocítica.

Las formas de afectación medular más frecuentes son nodular focal y difusa (Figura 17). La posibilidad de no identificar células de Reed-Sternberg o células de Hodgkin en los infiltrados aumenta en las afectaciones focales. En esta situación, la presencia de enfermedad extramedular histológicamente constatada no debe excluir la existencia de infiltración de la médula ósea. En ocasiones y, especialmente, en el contexto de inmunosupresión, la enfermedad puede presentarse con infiltración medular difusa.

La utilización de la biopsia medular en LHC es controvertida. En pacientes en estadios I-II de la

enfermedad, edad inferior a 35 años y ausencia de alteraciones analíticas y síntomas B, se ha visto que la incidencia de infiltración medular es virtualmente nula. Por otra parte, no se ha demostrado que la afectación medular sea un factor pronóstico adverso en pacientes con LHC en estadios III-IV. En los estadios iniciales de la enfermedad el impacto pronóstico no está claramente establecido por la baja incidencia de afectación⁽⁷⁴⁾. Por estas razones, la tendencia actual es evaluar los pacientes con pruebas de imagen como la PET y realizar la biopsia medular en los casos en que se identifique captación, aunque la práctica clínica diaria es aún heterogénea⁽⁷⁵⁾.

8. Bibliografía

1. Juneja SK, Wolf MM, Cooper IA. Value of bilateral bone marrow biopsy specimens in non-Hodgkin's lymphoma. *J Clin Pathol.* 1990;43:630-2.
2. Arber DA, George TI. Bone marrow biopsy involvement by non-Hodgkin's lymphoma: frequency of lymphoma types, patterns, blood involvement, and discordance with other sites in 450 specimens. *Am J Surg Pathol.* 2005;29:1549-57.
3. Hernández Nieto L, Brito Barroso ML, Ravina M, González Brito G, Rodríguez Martín JM, Marsa Vila L, Chavez MI.

- Valor de la biopsia medular bilateral en los linfomas malignos. Estudio sobre 166 muestras. *Sangre*. 1985;30:117.
4. Hernández Nieto L, Hernández García MT, González Brito G, Brito Barroso ML, Marsa Vila L, Chávez MI. Biopsia medular en los linfomas no Hodgkin: experiencia sobre 259 muestras. *Sangre*. 1989;34:271-7.
 5. Brunning RD, Bloomfield CD, McKenna RW, Peterson LA. Bilateral trephine bone marrow biopsies in lymphoma and other neoplastic diseases. *Ann Intern Med*. 1975;82:365-6.
 6. Collier BS, Chabner BA, Gralnick HR. Frequencies and patterns of bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphomas: observations on the value of bilateral biopsies. *Am J Hematol*. 1977;3:105-19.
 7. Haddy TB, Parker RI, Magrath IT. Bone marrow involvement in young patients with non-Hodgkin's lymphoma: the importance of multiple bonemarrow samples for accurate staging. *Med Pediatr Oncol*. 1989;17:418-23.
 8. Wang J, Weiss LM, Chang KL, Slovak ML, Gaal K, Forman SJ, et al. Diagnostic utility of bilateral bone marrow examination: significance of morphologic and ancillary technique study in malignancy. *Cancer*. 2002;94:1522-31.
 9. Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol*. 2001;54:737-42.
 10. Bishop PW, McNally K, Harris M. Audit of bone marrow trephines. *J Clin Pathol*. 1992;45:1105-8.
 11. Campbell JK, Matthews JP, Seymour JF, Wolf MM, Juneja SK; Australian Leukemia Lymphoma Group. Optimum trephine length in the assessment of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma. *Ann Oncol*. 2003;14:273-6.
 12. Cheah CY, Seymour JF. Bone marrow biopsy for the initial staging of patients with lymphoma: too soon to toss the trephine. *Oncology (Williston Park)*. 2013;27:1288-90.
 13. Wilkins BS, Clark DM. Making the most of bone marrow trephine biopsy. *Histopathology*. 2009;55:631-40.
 14. Kaur M, Singh Rana AP, Kapoor S, Puri A. Diagnostic value of bone marrow aspiration and biopsy in routine hematology practice. *J Clin Diagn Res*. 2014;8:FC13-6.
 15. Coad JE, Olson DJ, Christensen DR, Lander TA, Chibbar R, McGlennen RC, Brunning RD. Correlation of PCR-detected clonal gene rearrangements with bone marrow morphology in patients with B-lineage lymphomas. *Am J Surg Pathol*. 1997;21:1047-56.
 16. Coad J, Olson D, Lander T, McGlennen R. Molecular Assessment of Clonality in Lymphoproliferative Disorders: II. T-cell Receptor Gene Rearrangements. *Mol Diagn*. 1997;2:69-81.
 17. Coad J, Olson D, Lander T, McGlennen R. Molecular Assessment of Clonality in Lymphoproliferative Disorders: I. Immunoglobulin Gene Rearrangements. *Mol Diagn*. 1996;1:335-55.
 18. Hanson CA, Kurtin PJ, Katzmann JA, Hoyer JD, Li CY, Hodnefield JM, et al. Immunophenotypic analysis of peripheral blood and bone marrow in the staging of B-cell malignant lymphoma. *Blood*. 1999;94:3889-96.
 19. Reineke T, Jenni B, Abdou MT, Frigerio S, Zubler P, Moch H, Tinguely M. Ultrasonic decalcification offers new perspectives for rapid FISH, DNA, and RT-PCR analysis in bone marrow trephines. *Am J Surg Pathol*. 2006;30:892-6.
 20. Gurbity TP, Bagdi E, Groen NA, Budel LM, Abbou M, Krenacs L, Dinjens WN. Increased sensitivity of B-cell clonality analysis in formalin-fixed and paraffin-embedded B-cell lymphoma samples using an enzyme blend with both 5'→3' DNA polymerase and 3'→5' exonuclease activity. *Virchows Arch*. 2003;443:643-8.
 21. Lassmann S, Gerlach UV, Technau-Ihling K, Werner M, Fisch P. Application of BIOMED-2 primers in fixed and decalcified bone marrow biopsies: analysis of immunoglobulin H receptor rearrangements in B-cell non-Hodgkin's lymphomas. *J Mol Diagn*. 2005;7:582-91.
 22. Kang YH, Park CJ, Seo EJ, Huh J, Kim SB, Kang YK, Chi HS. Polymerase chain reaction-based diagnosis of bone marrow involvement in 170 cases of non-Hodgkin lymphoma. *Cancer*. 2002;94:3073-82.
 23. Engels K, Oeschger S, Hansmann ML, Hillebrand M, Kriener S. Bone marrow trephines containing lymphoid aggregates from patients with rheumatoid and other autoimmune disorders frequently show clonal B-cell infiltrates. *Hum Pathol*. 2007;38:1402-11.
 24. McKenna RW, Hernández JA. Bone marrow in malignant lymphoma. *Hematol Oncol Clin North Am*. 1988;2:617-35.
 25. Conlan MG, Bast M, Armitage JO, Weisenburger DD. Bone marrow involvement by non-Hodgkin's lymphoma: the clinical significance of morphologic discordance between the lymph node and bone marrow. Nebraska Lymphoma Study Group. *J Clin Oncol*. 1990;8:1163-72.
 26. A clinical evaluation of the International Lymphoma Study Group classification of non-Hodgkin's lymphoma. The Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *Blood*. 1997;89:3909-18.
 27. Bennett JM, Cain KC, Glick JH, Johnson GJ, Ezdinli E, O'Connell MJ. The significance of bone marrow involvement in non-Hodgkin's lymphoma: the Eastern Cooperative Oncology Group experience. *J Clin Oncol*. 1986;4:1462-9.

28. Pangalis GA, Roussou PA, Kittas C, Kokkinou S, Fessas P. B-chronic lymphocytic leukemia. Prognostic implication of bone marrow histology in 120 patients experience from a single hematology unit. *Cancer*. 1987;59:767-71.
29. Rozman C, Montserrat E, Rodríguez-Fernández JM, Ayats R, Vallespi T, Parody R, et al. Bone marrow histologic pattern--the best single prognostic parameter in chronic lymphocytic leukemia: a multivariate survival analysis of 329 cases. *Blood*. 1984;64:642-8.
30. Lambertenghi-Delilieri G, Annaloro C, Soligo D, Oriani A, Pozzoli E, Quirici N, et al. Incidence and histological features of bone marrow involvement in malignant lymphomas. *Ann Hematol*. 1992;65:61-5.
31. Buhr T, Länger F, Schlué J, von Wasielewski R, Lehmann U, Braumann D, Kreipe H. Reliability of lymphoma classification in bone marrow trephines. *Br J Haematol*. 2002;118:470-6.
32. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri SA, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC; 2008.
33. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization (WHO) classification of lymphoid neoplasms. *Blood*. 2016;127:2375-90.
34. Randen U, Tierens AM, Tjønnfjord GE, Delabie J. Bone marrow histology in monoclonal B-cell lymphocytosis shows various B-cell infiltration patterns. *Am J Clin Pathol*. 2013;139:390-5.
35. Hernández-Nieto L, Montserrat-Costa E, Muncunill J, Rozman C. Bone-marrow patterns and clinical staging in chronic lymphocytic leukaemia. *Lancet*. 1977;1:1269.
36. Pangalis GA, Boussiotis VA, Kittas C. B-chronic lymphocytic leukemia. Disease progression in 150 untreated stage A and B patients as predicted by bone marrow pattern. *Nouv Rev Fr Hematol*. 1988;30(5-6):373-5.
37. Pangalis GA, Roussou PA, Kittas C, Mitsoulis-Mentzikoff C, Matsouka-Alexandridis P, Anagnostopoulos N, et al. Patterns of bone marrow involvement in chronic lymphocytic leukemia and small lymphocytic (well differentiated) non-Hodgkin's lymphoma. Its clinical significance in relation to their differential diagnosis and prognosis. *Cancer*. 1984;54:702-8.
38. Rozman C, Hernández-Nieto L, Montserrat E, Bruges R. Prognostic significance of bone-marrow patterns in chronic lymphocytic leukaemia. *Br J Haematol*. 1981;47:529-37.
39. Oudat R, Keating MJ, Lerner S, O'Brien S, Albitar M. Significance of the levels of bone marrow lymphoid infiltrate in chronic lymphocytic leukemia patients with nodular partial remission. *Leukemia*. 2002;16:632-5.
40. Cohen PL, Kurtin PJ, Donovan KA, Hanson CA. Bone marrow and peripheral blood involvement in mantle cell lymphoma. *Br J Haematol*. 1998;101:302-10.
42. Viswanatha DS, Foucar K, Berry BR, Gascoyne RD, Evans HL, Leith CP. Blastic mantle cell leukemia: an unusual presentation of blastic mantle cell lymphoma. *Mod Pathol*. 2000;13:825-33.
43. Ferrer A, Salaverria I, Bosch F, Villamor N, Rozman M, Beà S, et al. Leukemic involvement is a common feature in mantle cell lymphoma. *Cancer*. 2007;109:2473-80.
44. Royo C, Navarro A, Clot G, Salaverria I, Giné E, Jares P, et al. Non-nodal type of mantle cell lymphoma is a specific biological and clinical subgroup of the disease. *Leukemia*. 2012;26:1895-8.
41. Navarro A, Clot G, Royo C, Jares P, Hadzidimitriou A, Agathangelidis A, et al. Molecular subsets of mantle cell lymphoma defined by the IGHV mutational status and SOX11 expression have distinct biologic and clinical features. *Cancer Res*. 2012;72:5307-16.
45. Gong JZ, Lagoo AS, Peters D, Horvatinovich J, Benz P, Buckley PJ. Value of CD23 determination by flow cytometry in differentiating mantle cell lymphoma from chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma. *Am J Clin Pathol*. 2001;116:893-7.
46. Kelemen K, Peterson LC, Helenowski I, Goolsby CL, Jovanovic B, Miyata S, et al. CD23+ mantle cell lymphoma: a clinical pathologic entity associated with superior outcome compared with CD23- disease. *Am J Clin Pathol*. 2008;130:166-77.
47. Espinet B, Ferrer A, Bellosillo B, Nonell L, Salar A, Fernández-Rodríguez C, et al. Distinction between Asymptomatic Monoclonal B-cell Lymphocytosis with Cyclin D1 Overexpression and Mantle Cell Lymphoma: From Molecular Profiling to Flow Cytometry. *Clin Cancer Res*. 2014;20:1007-19.
48. Treon SP, Xu L, Yang G, Zhou Y, Liu X, Cao Y, et al. MYD88 L265P Somatic Mutation in Waldenström's Macroglobulinemia. *N Engl J Med*. 2012;367:826-33.
49. Bassarova A, Trøen G, Spetalen S, Micci F, Tierens A, Delabie J. Lymphoplasmacytic lymphoma and marginal zone lymphoma in the bone marrow: paratrabecular involvement as an important distinguishing feature. *Am J Clin Pathol*. 2015;143:797-806.

50. Boveri E, Arcaini L, Merli M, Passamonti F, Rizzi S, Vanelli L, et al. Bone marrow histology in marginal zone B-cell lymphomas: correlation with clinical parameters and flow cytometry in 120 patients. *Ann Oncol.* 2009;20:129-36.
51. Inamdar KV, Medeiros LJ, Jorgensen JL, Amin HM, Schlette EJ. Bone marrow involvement by marginal zone B-cell lymphomas of different types. *Am J Clin Pathol.* 2008;129:714-22.
52. Kent SA, Variakojis D, Peterson LC. Comparative study of marginal zone lymphoma involving bone marrow. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:698-708.
53. Nathwani BN, Anderson JR, Armitage JO, Cavalli F, Diebold J, Drachenberg MR, et al. Marginal zone B-cell lymphoma: a clinical comparison of nodal and mucosa-associated lymphoid tissue types. Non-Hodgkin's Lymphoma Classification Project. *J Clin Oncol.* 1999;17:2486-92.
54. Torlakovic E, Torlakovic G, Brunning RD. Follicular pattern of bone marrow involvement by follicular lymphoma. *Am J Clin Pathol.* 2002;118:780-6.
55. Berget E, Helgeland L, Liseth K, Løkeland T, Molven A, Vintermyr OK. Prognostic value of bone marrow involvement by clonal immunoglobulin gene rearrangements in follicular lymphoma. *J Clin Pathol.* 2014;67(12):1072-7.
56. Tiacci E, Trifonov V, Schiavoni G, Holmes A, Kern W, Martelli MP, et al. BRAF mutations in hairy-cell leukemia. *N Engl J Med.* 2001;364:2305-15.
57. Wotherspoon A, Attygalle A, Sena Teixeira Mendes L. Bone marrow and splenic histology in hairy cell leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2015;28:200-7.
58. Tiacci E, Park JH, De Carolis L, Chung SS, Broccoli A, Scott S, et al. Targeting Mutant BRAF in Relapsed or Refractory Hairy-Cell Leukemia. *N Engl J Med.* 2015;373(18):1733-47.
59. Jones G, Parry-Jones N, Wilkins B, Else M, Catovsky D. Revised guidelines for the diagnosis and management of hairy cell leukaemia and hairy cell leukaemia variant. *Br J Haematol.* 2012;156:186-95.
60. Colomo L, López-Guillermo A, Perales M, Rives S, Martínez A, Bosch F, et al. Clinical impact of the differentiation profile assessed by immunophenotyping in patients with diffuse large B-cell lymphoma. *Blood.* 2003;101:78-84.
61. Cabezas-Quintario MA, Gómez P, Yuste-Del Pozo V, Valencia-Mesa AL, Sosa G, Ricard P, et al. Bone marrow trephine biopsy involvement by lymphoma: pattern of involvement and concordance with flow cytometry, in 10 years from a single institution. *Clin Transl Oncol.* 2016;18:537-40.
62. Fend F, Kremer M. Diagnosis and classification of malignant lymphoma and related entities in the bone marrow trephine biopsy. *Pathobiology.* 2007;74:133-43.
63. Campbell J, Seymour JF, Matthews J, Wolf M, Stone J, Juneja S. The prognostic impact of bone marrow involvement in patients with diffuse large cell lymphoma varies according to the degree of infiltration and presence of discordant marrow involvement. *Eur J Haematol.* 2006;76:473-80.
64. Sehn LH, Scott DW, Chhanabhai M, Berry B, Ruskova A, Berkahn L, et al. Impact of concordant and discordant bone marrow involvement on outcome in diffuse large B-cell lymphoma treated with R-CHOP. *J Clin Oncol.* 2011;29:1452-7.
65. Kremer M, Spitzer M, Mandl-Weber S, Stecker K, Schmidt B, Höfler H, et al. Discordant bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma: comparative molecular analysis reveals a heterogeneous group of disorders. *Lab Invest.* 2003;83:107-14.
66. Brudno J, Tadmor T, Pittaluga S, Nicolae A, Polliack A, Dunleavy K. Discordant bone marrow involvement in non-Hodgkin lymphoma. *Blood.* 2016;127:965-70.
67. Yamaguchi M, Seto M, Okamoto M, Ichinohasama R, Nakamura N, Yoshino T, et al. De novo CD5 + diffuse large B-cell lymphoma: A clinicopathologic study of 109 patients. *Blood.* 2002;99:815-21.
68. Yamaguchi M, Nakamura N, Suzuki R, Kagami Y, Okamoto M, Ichinohasama R, et al. De novo CD5+ diffuse large B-cell lymphoma: Results of a detailed clinicopathological review in 120 patients. *Haematologica.* 2008;93:1195-202.
69. Abou-Elella AA, Weisenburger DD, Vose JM, Kollath JP, Lynch JC, Bast MA, et al. Primary mediastinal large B-cell lymphoma: A clinicopathologic study of 43 patients from the Nebraska lymphoma study group. *J Clin Oncol.* 1999;17:784-90.
70. Hsi AC, Robirds DH, Luo J, Kreisel FH, Frater JL, Nguyen TT. T-cell prolymphocytic leukemia frequently shows cutaneous involvement and is associated with gains of MYC, loss of ATM, and TCL1A rearrangement. *Am J Surg Pathol.* 2014;38:1468-83.
71. Dogan A, Morice WG. Bone marrow histopathology in peripheral T-cell lymphomas. *Br J Haematol.* 2004;127:140-54.
72. Weinberg OK, Seo K, Arber DA. Prevalence of bone marrow involvement in systemic anaplastic large cell lymphoma: are immunohistochemical studies necessary? *Hum Pathol.* 2008;39:1331-40.
73. Benner MF, Willemze R. Bone marrow examination has limited value in the staging of patients with an anaplastic large

- cell lymphoma first presenting in the skin. Retrospective analysis of 107 patients. *Br J Dermatol*. 2008;159:1148-51.
74. Adams HJ, Nievelstein RA, Kwee TC. Opportunities and limitations of bone marrow biopsy and bone marrow FDG-PET in lymphoma. *Blood Rev*. 2015;29(6):417-25.
75. Richardson SE, Sudak J, Warbey V, Ramsay A, McNamara CJ. Routine bone marrow biopsy is not necessary in the staging of patients with classical Hodgkin lymphoma in the 18F-fluoro-2-deoxyglucose positron emission tomography era. *Leuk Lymphoma*. 2012;53:381-5.

La biopsia de médula ósea en el estudio de las gammopatías monoclonales

José María Raya Sánchez, Miguel T. Hernández García

1. Introducción

Clásicamente, se considera que, ante una gammapatía monoclonal (que no sea IgM), el procedimiento de aspiración medular generalmente puede dar la respuesta a la pregunta fundamental que se hace el clínico: ¿estamos o no ante un mieloma múltiple (MM)?⁽¹⁾. Sin embargo, resulta un hecho ampliamente reconocido que la biopsia de médula ósea (BMO) puede mostrar un grado de infiltración más extenso que el aportado por el aspirado medular⁽²⁾. Aunque las indicaciones de realización de BMO en pacientes con gammopatías monoclonales no han cambiado sustancialmente con el paso de los años, la introducción en los laboratorios de anatomía patológica de los anticuerpos monoclonales y su aplicación en técnicas de inmunohistoquímica en cortes de biopsia han aumentado significativamente el rendimiento de la BMO. Así, cada vez son más los hematólogos que consideran la realización de esta prueba en la batería de estudios iniciales de las gammopatías monoclonales en las que se sospeche el padecimiento de un MM.

2. Mieloma múltiple

2.1. Concepto

Es una enfermedad clonal de estirpe B, en la que existe un aumento de las células plasmáticas (que

al agruparse forman plasmocitomas), productoras en la mayoría de los casos de una inmunoglobulina o cadena ligera monoclonal detectable en suero y/o en orina (gammapatía monoclonal). Nosológicamente, se engloba dentro de las neoplasias linfoides y concretamente en las neoplasias de células B maduras. La presentación clínica es muy variable, pudiendo ser asintomático, pero frecuentemente se presentan síntomas, siendo el más frecuente el dolor óseo (53%) provocado por la característica osteopatía con osteopenia y/o lesiones osteolíticas que pueden producir fracturas óseas patológicas e hipercalcemia, pero también síntomas generales como la pérdida de peso y la astenia, objetivándose hasta en un 25% de los casos insuficiencia renal, anemia (45%) y aumento de infecciones. La plasmocitosis clonal medular es el principal criterio diagnóstico y, según esta y otros factores biológicos, podremos diferenciar entre la gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI), el mieloma quiescente (MQ), anteriormente denominado asintomático, y el MM, anteriormente llamado sintomático. En las [Tablas 1 a 5](#) se recogen los criterios diagnósticos actuales.

2.2. Aspirado frente a biopsia medular

Esbozado al principio de este capítulo, el debate acerca de si hacer aspirado únicamente o aspira-

Tabla 1. Definición de CRAB

CRAB
• HiperCalcemia: Ca corregido > 2,75 mmol/L (> 11 mg/dL) o > 0,25 mmol/L (1 mg/dL) por encima del límite superior normal
• Insuficiencia Renal: Cr > 173 mmol/L (2 mg/dL) o aclaramiento < 40 mL/min (medido o calculado)
• Anemia: Hb < 10 g/dL o < 2 g/dL del límite bajo normal
• Osteopatía (<i>Bone</i>): osteolisis (una o más lesiones osteolíticas en el mapa óseo, TAC o PET-TAC de al menos 5 mm)

Ca: calcio; Cr: creatinina; Hb: hemoglobina; PET: tomografía por emisión de positrones; TAC: tomografía axial computarizada

Tabla 2. Biomarcadores de malignidad en gammopatías monoclonales

Biomarcadores de malignidad
• 60% o más de células plasmáticas en la médula ósea
• Cociente de cadenas ligeras libres en suero (afecta:no afecta) ≥ 100 (siendo la afecta de al menos 100 mg/L)
• ≥ 2 lesiones focales en la RMN (de al menos 5 mm)

RMN: resonancia magnética nuclear

Tabla 3. Criterios diagnósticos de gammopatía monoclonal de significado incierto (GMSI)

Gammopatía monoclonal de significado incierto
• Componente "M" en suero < 3 g/dL (sin Bence-Jones o mínima)
• < 10% plasmáticas monoclonales en médula ósea (AMO o BMO; si se hacen ambas, se valora la de mayor porcentaje)
• Sin evidencia de otras enfermedades linfoproliferativas de células B
• Sin CRAB, ni biomarcadores de malignidad

AMO: aspirado de médula ósea; BMO: biopsia de médula ósea

Tabla 4. Criterios diagnósticos de mieloma quiescente

Mieloma quiescente
• Componente "M" en suero ≥ 3 g/dL y/o células plasmáticas clonales $\geq 10\%$
• Sin CRAB y sin biomarcadores de malignidad de mieloma

Tabla 5. Criterios diagnósticos de mieloma múltiple

Mieloma múltiple
• Células plasmáticas "clonales" en médula ósea $\geq 10\%$ o plasmocitoma óseo o extraóseo demostrado por biopsia
• Presencia de 1 o más de los criterios CRAB o biomarcadores de mieloma

do y BMO en pacientes en los que se quiere investigar un posible diagnóstico de MM no está del todo resuelto. Existen trabajos clásicos que apoyan que la realización rutinaria de una BMO puede ser de gran ayuda en el estudio de los pacientes con MM^(3,4). Sin embargo, otros estudios defienden que la realización sistemática de BMO no aporta beneficio añadido al diagnóstico o seguimiento de un paciente con mieloma, cuando se compara con un aspirado de médula ósea (AMO)⁽⁵⁾. Aunque los autores reconocen que un 40% de las BMO aportan una información que no se puede obtener a partir del simple aspirado, tal información la consideran en todos los casos irrelevante o susceptible de ser recabada por otros medios no invasivos. En términos generales, el AMO es la prueba más utilizada para el diagnóstico en Europa, mientras que en los Estados Unidos la BMO es la prueba de elección.

En nuestra experiencia, la BMO tiene un papel importante en un porcentaje no bajo de casos. Entre los motivos por los que el aspirado puede ser "engañoso" se encuentran sobre todo 2: 1) en el proceso de aspiración, la muestra se diluye en sangre y esta dilución aumenta cuanto mayor sea el volumen de médula aspirado, obteniéndose porcentajes de células plasmáticas falsamente bajos. Hasta la fecha no existe un consenso sobre la cantidad idónea a aspirar; y 2) la distribución focal o "parcheada" de la afectación medular por las células mielomatosas hace que el porcentaje obtenido en el aspirado dependa en gran medida del lugar puncionado.

Entre las indicaciones más ampliamente reconocidas para realizar una BMO en pacientes en los que se sospecha o se conoce el padecimiento de una gammopatía monoclonal de naturaleza maligna (dejando la enfermedad de Waldenström –EW– al

margen, que se comentará más adelante), se encuentran:

- Aspirado medular “nulo” (punción “blanca”) o que aporte muestra insuficiente para poder tipificar una paraproteïnemia, situación más frecuentemente relacionada con médula totalmente invadida (“empaquetada”) o con fibrosis significativa.

- Casos de GMSI en los que el AMO consigue muestra suficiente pero con plasmocitosis < 10% y en los que además existe algún dato que haga sospechar MM (componente M especialmente elevado, lesiones óseas líticas, insuficiencia renal, hipercalcemia, etc.).

- Investigación de la presencia de amiloidosis, asociada con relativa frecuencia a casos de gammapatía monoclonal.

- Formando parte del estudio general de un paciente con MM que va a recibir un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH), para valorar, entre otros, el grado de riqueza celular hematopoyética medular.

Aplicando los criterios diagnósticos más recientes del International Myeloma Working Group (IMWG)⁽⁶⁾, que inciden de forma clara en la importancia del porcentaje de células plasmáticas, un grupo de autores ha encontrado que cerca del 20% de los pacientes con diagnóstico final de MM tenía una plasmocitosis < 10% en el aspirado medular⁽⁷⁾, siendo la BMO la que finalmente confirmó el diagnóstico en el 95% de ellos, al demostrar (mediante un procedimiento de análisis de imagen en cortes histológicos en los que se usó CD138) que la plasmocitosis era en realidad $\geq 10\%$.

En el capítulo 11 se analiza el papel de la tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/TC) en el diagnóstico del mieloma, así como en el seguimiento tras recibir tratamiento. Pero no sustituye a la exploración directa de la médula ósea, pues ya hemos visto que el porcentaje de células plasmáticas en la médula ósea es imprescindible en los criterios diagnósticos actuales. Además, es necesario el análisis de la médula ósea para el estudio citogenético y para determinar la enfermedad mínima residual. Por lo tanto, actualmente ambas exploraciones (BMO y FDG-PET/TC) son complementarias en el estudio del mieloma.

2.3. Principales hallazgos histopatológicos

Los datos morfológicos que aporta la BMO al estudio de las gammapatías monoclonales sugieren que la evolución desde GMSI a MM en fases iniciales y la de este a mieloma avanzado comprenden cambios específicos que siguen un patrón preciso. Estos cambios incluirían un aumento progresivo en el porcentaje de células plasmáticas, transformación morfológica de las células plasmáticas desde plasmocíticas a plasmoblásticas, incremento en la celularidad global y en el grado de fibrosis, cambio en el patrón de infiltración (mayor tendencia a difuso que a intersticial), un descenso de la hematopoyesis residual y un aumento de la presencia de osteoclastos⁽⁸⁾.

La información que la BMO puede aportar en las gammapatías monoclonales se centra en los aspectos que se detallan a continuación.

2.3.1. Cuantificación de la plasmocitosis

En sujetos sanos o con gammapatías monoclonales benignas, las células plasmáticas predominan en torno a vasos sanguíneos. En pacientes con mieloma, sin embargo, la disposición puede ser focal o encontrarse “distorsionada” por fibrosis concomitante, y en estos casos el AMO se revela poco fidedigno para calcular la carga tumoral real. Así, en algún estudio, la plasmocitosis aportada por el AMO es menor que la vista en BMO hasta en un 48% de los casos analizados, lo que ha llevado a algunos autores a aseverar que la BMO es una técnica superior al aspirado medular para la estimación directa de la carga tumoral medular en pacientes con MM⁽⁹⁾. La incorporación de marcadores monoclonales (sobre todo CD138) permite precisar aún más dicha carga tumoral⁽¹⁰⁾ y lleva a afirmar a algunos autores que “la inmunohistología es el método más sensible para determinar el grado de infiltración medular al diagnóstico y tras tratamiento”⁽¹¹⁾. La utilización de un sistema informatizado de análisis de imagen, que podría mejorar los resultados al incrementar el grado de objetividad, no está al alcance de la mayoría de los laboratorios⁽⁷⁾.

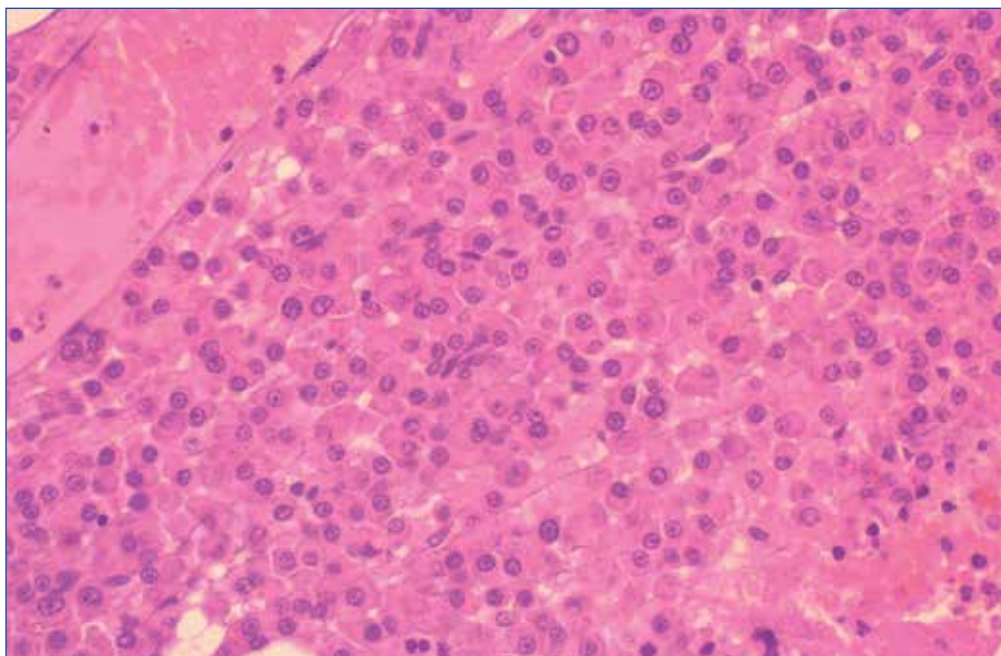


Figura 1. Mieloma múltiple: tipo celular plasmocítico (HE $\times 400$).

2.3.2. Morfología celular y otros aspectos citológicos

Aunque, de nuevo, el AMO resulta más rentable que la BMO en el estudio morfológico de las células plasmáticas, no resulta por lo general difícil la diferenciación en los cortes histológicos de un aspecto celular plasmocítico (tamaño pequeño, núcleo excéntrico con cromatina en "rueda de carro" –as-

pecto este histológico, no citológico– y citoplasma relativamente amplio) (Figura 1), plasmoblástico (tamaño intermedio o grande, núcleo más centrado con cromatinas inmaduras, laxas, nucleolo evidente y citoplasma escaso) (Figura 2) o incluso pleomórfico. Así, el MM puede clasificarse en de bajo, intermedio o alto grado de malignidad, atendiendo a los detalles citológicos de las plasmáticas malignas

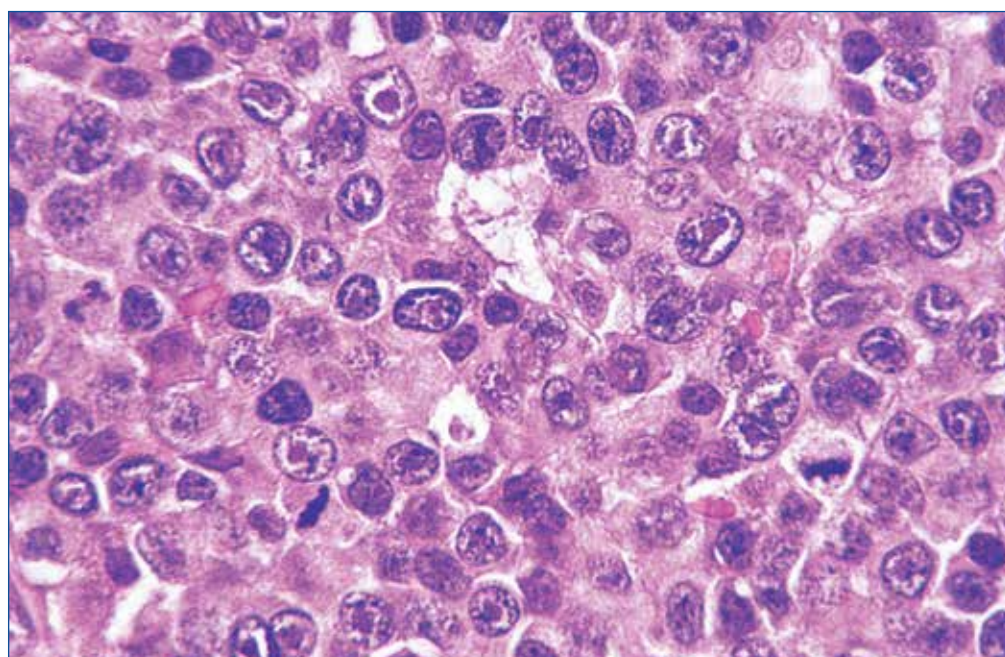
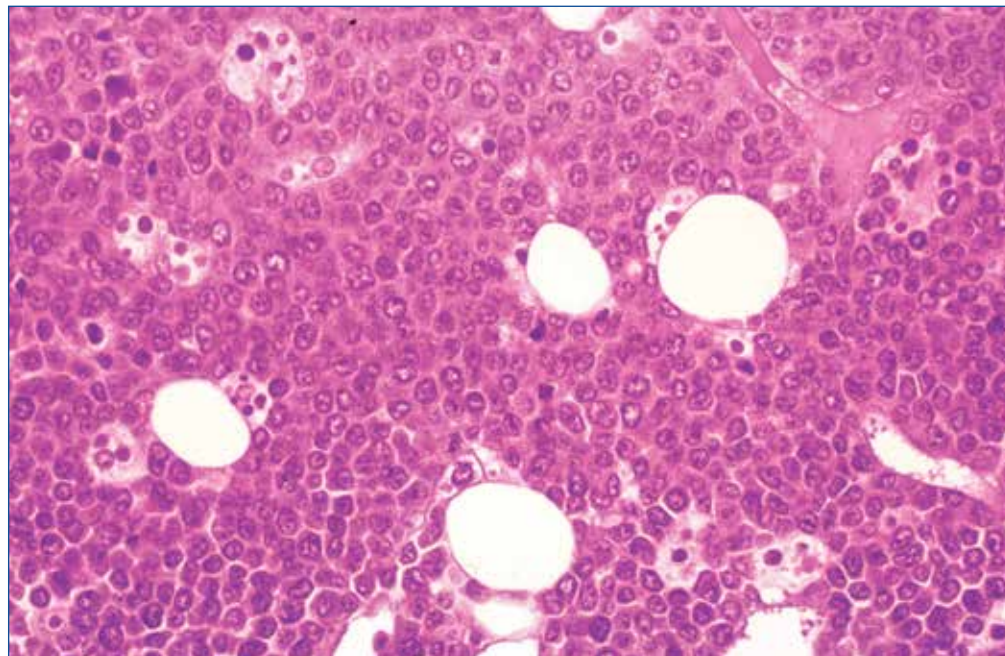


Figura 2. Mieloma múltiple: tipo celular plasmoblástico (HE $\times 1.000$).

Figura 3. Mieloma múltiple de alto grado de malignidad. Macrófagos acumulando restos celulares (patrón en “cielo estrellado”) (HE \times 400).



(Figura 3)⁽¹²⁾. Algún estudio ha intentado aplicar clasificaciones de morfología de células plasmáticas a la biopsia medular, con resultado variable⁽¹³⁾.

Otros aspectos citológicos, como son la presencia de cuerpos de Russell (Figuras 4 y 5) o de cuerpos de Dutcher, también pueden resultar llamativos en algunos cortes histológicos, aunque carecen de significado especial.

2.3.3. Patrones de afectación

No existen unos patrones claramente diferenciados de afectación medular por mieloma. Con todo, se suelen aceptar 3 patrones más frecuentemente: nodular/placa, difuso o intersticial. Por lo general, se tratará de una infiltración en forma de nódulos o placas limitadas de mieloma que respetan en mayor o me-

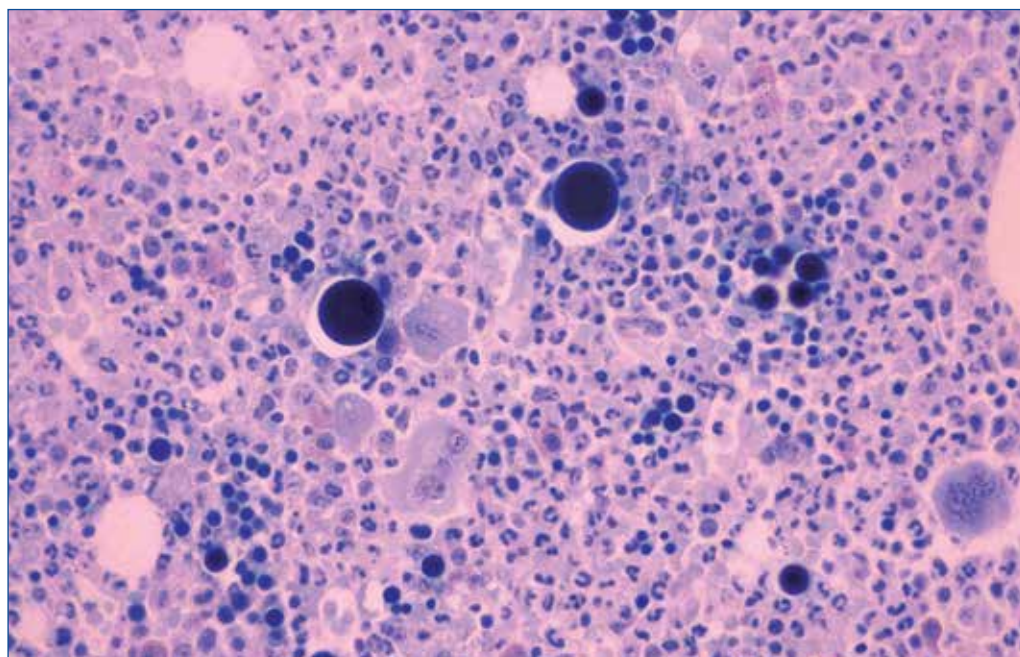


Figura 4. Cuerpos de Russell en una gammopatía monoclonal de significado indeterminado. (Giemsa \times 400).

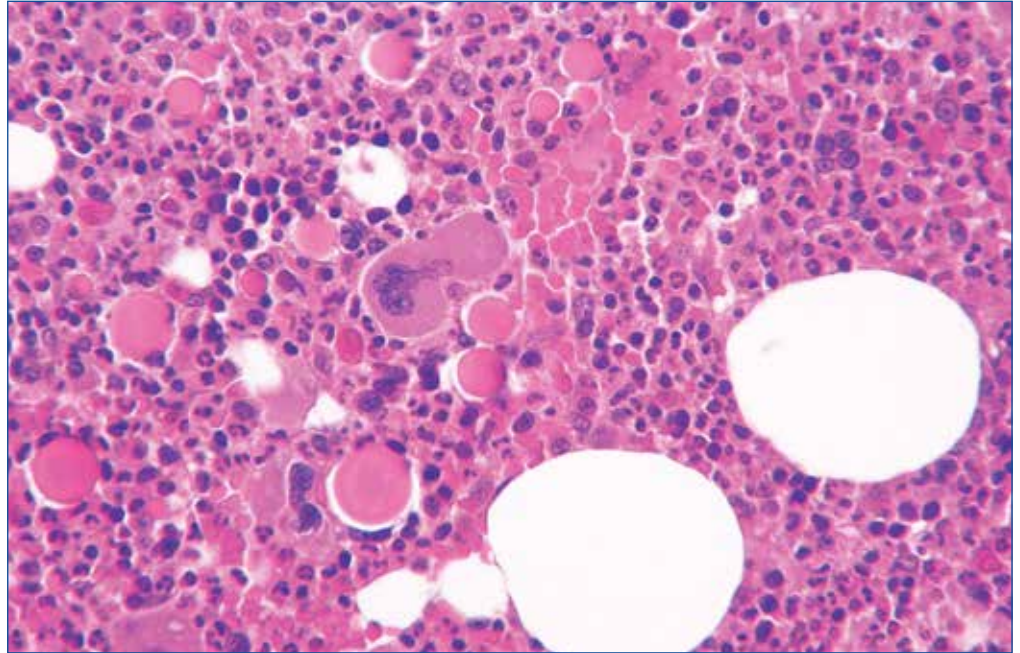


Figura 5. Mismo caso de la Figura 4 en tinción de HE ($\times 400$).

nor grado la arquitectura medular (**Figuras 6 y 7**); en otros casos, la afectación será difusa o en “sábana”, con desaparición del componente graso y sustitución del tejido hematopoyético sano por células mielomatosas (**Figura 8**); finalmente, también es posible la existencia de un patrón intersticial (**Figura 9**). Se ha descrito la existencia de cierta correlación entre el tipo morfológico celular y el patrón de afectación,

de tal forma que el tipo celular plasmocítico produciría en la mayoría de los casos un patrón intersticial, mientras que el plasmoblástico se asociaría más a menudo a un patrón difuso o nodular⁽¹⁴⁾. Cuando se trate de células plasmoblásticas, casi indistinguibles de otras hemopatías malignas de células inmaduras (leucemias agudas, linfomas de células grandes), que pueden producir patrones parecidos al del mie-

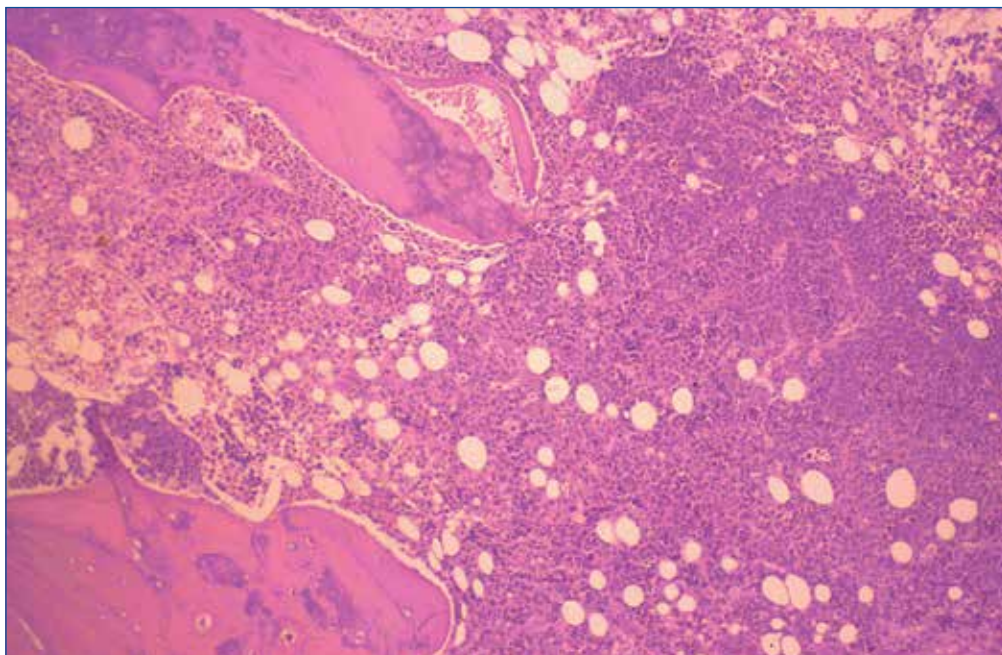


Figura 6. Mieloma múltiple. Patrón placa (HE $\times 100$).

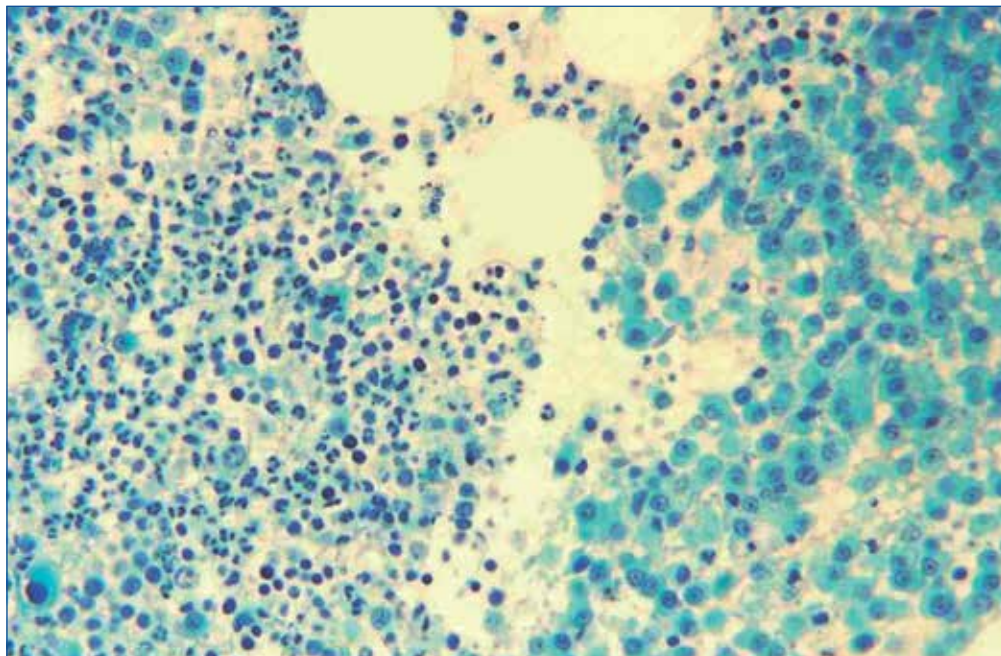


Figura 7. Mieloma múltiple.
Patrón placa (Giemsa × 400).

loma, las técnicas de inmunohistoquímica ayudarán a establecer su naturaleza específica.

2.3.4. Información inmunohistoquímica

La introducción de anticuerpos monoclonales para su aplicación a cortes histológicos ha supuesto un avan-

ce cualitativo en cuanto a la rentabilidad diagnóstica de la biopsia medular⁽¹⁵⁾. La batería de anticuerpos para inmunohistoquímica en el estudio de gammopatías monoclonales debe incluir al menos CD20, CD38, CD56, CD138 y EMA (*epithelial membrane antigen*), además de IgA, IgG, IgM y cadenas ligeras kappa y lambda, estas últimas para establecer el subtipo de mieloma en función de la inmunoglobulina y/o cade-

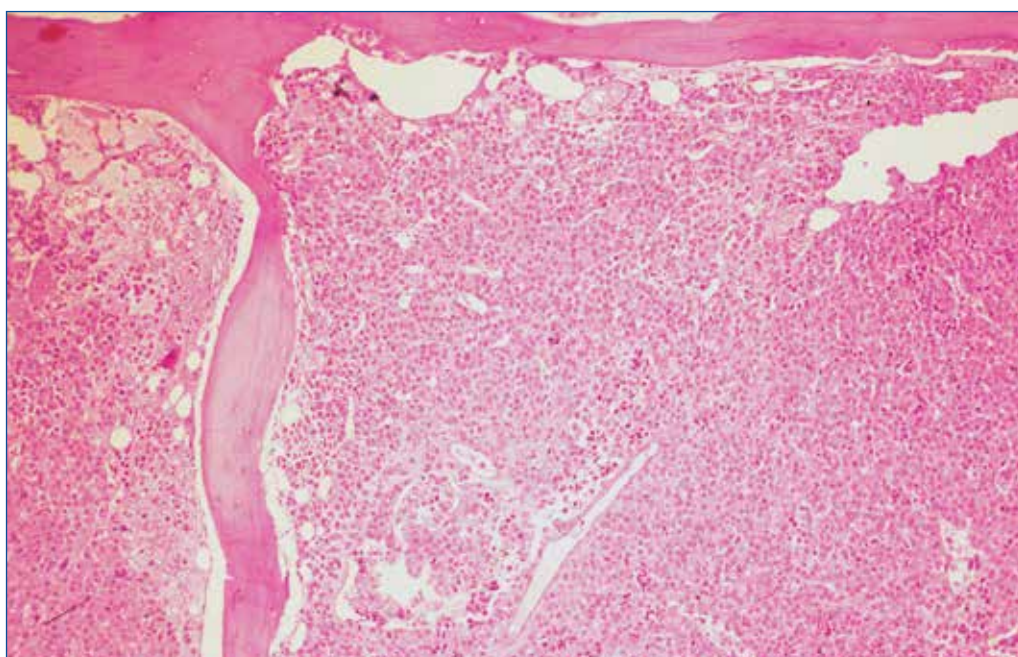


Figura 8. Mieloma múltiple. Infiltración medular con patrón difuso (HE × 250).

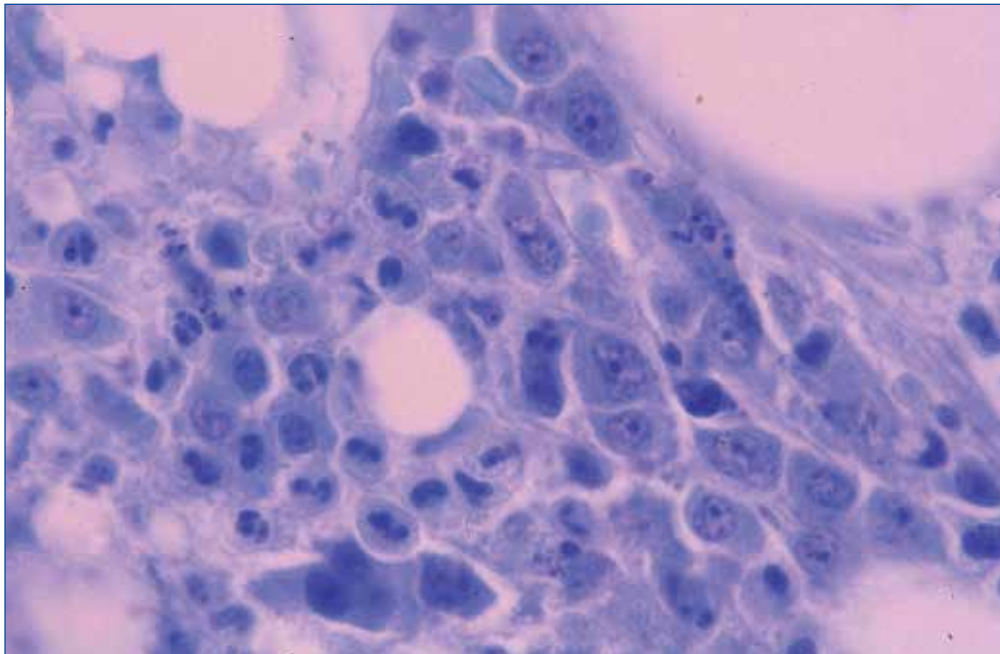


Figura 9. Mieloma múltiple. Infiltración con patrón intersticial por plasmoblastos (Giemsa $\times 1.000$).

na ligera secretadas (**Figuras 10 a 12**). Cuando la apariencia morfológica ofrezca dudas sobre el tipo celular en un infiltrado medular, la inmunohistoquímica suele resultar definitiva para catalogarla o no de mieloma. Un anticuerpo monoclonal que se ha utilizado con éxito para reconocer las células plasmáticas en cortes de biopsia, como se mencionó con anterioridad, es el CD138 (B-B4), que reconoce la molécula de adhe-

sión syndecan-1; otros procesos linfoproliferativos B, incluidos linfomas con capacidad inmunosecretora, son negativos para CD138⁽¹⁶⁾. Sin embargo, es necesario tener presente que a este papel como excelente marcador de diferenciación plasmocítica hay que añadir su reactividad en algunos tumores sólidos, por lo que, cuando sospechemos un mieloma, la positividad para CD138 debe acompañarse de la de otros

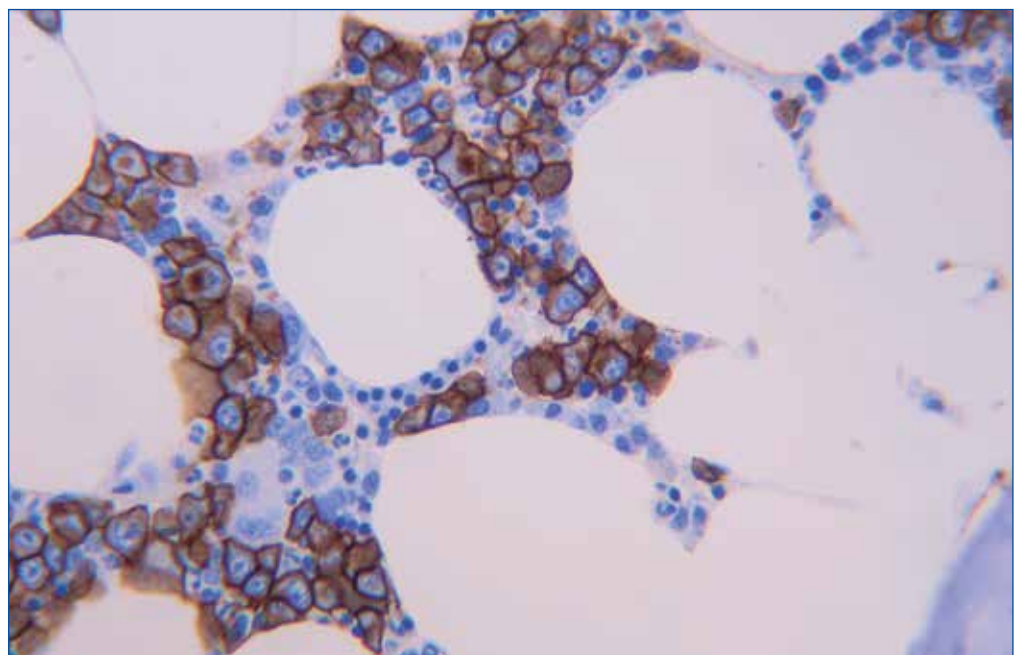


Figura 10. Mieloma múltiple. Positividad de las células neoplásicas para CD138 ($\times 1.000$).

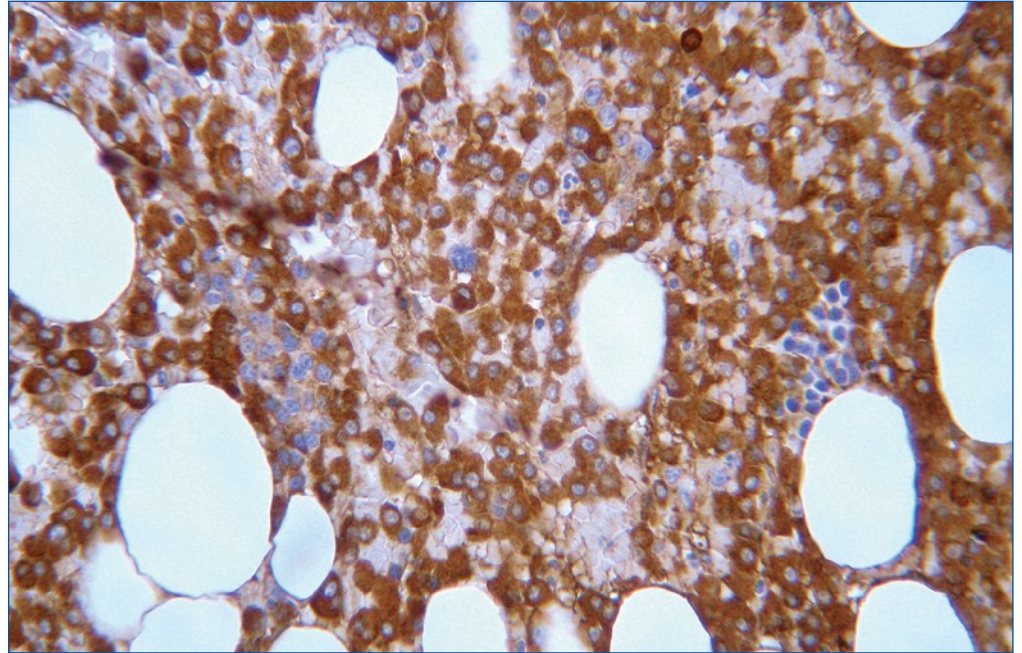


Figura 11. Mieloma múltiple: identificación inmunohistoquímica (Anti-IgA $\times 400$).

marcadores propios del sistema hematopoyético⁽¹⁷⁾. En un estudio reciente en el que se comparaba el valor de la citometría de flujo con el del estudio inmunohistoquímico de la BMO en cuantificar las células plasmáticas en médula ósea, la tinción con CD138 en cortes histológicos resultó el método más fiable⁽¹⁸⁾, aunque ambos procedimientos se consideraron complementarios en el objetivo de diagnosticar un MM.

Por otra parte, aunque ya comercializado hace años para técnicas citométricas⁽¹⁹⁾, recientemente está disponible el anticuerpo monoclonal CD56 para su uso en cortes histológicos fijados en parafina, el cual reconoce la molécula de adhesión NCAM (*neural cell adhesion molecule*). Algunos autores lo consideran como un marcador muy útil en el diagnóstico diferencial de las gammopatías monoclonales (MM, GMSI y

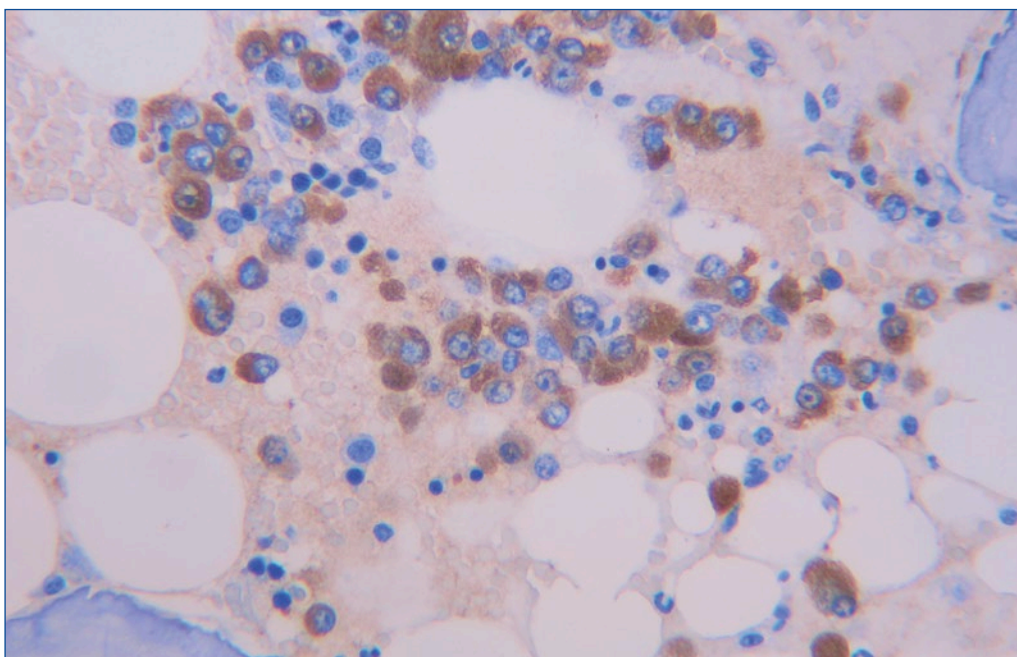


Figura 12. Mieloma múltiple: identificación inmunohistoquímica (Anti-kappa $\times 400$).

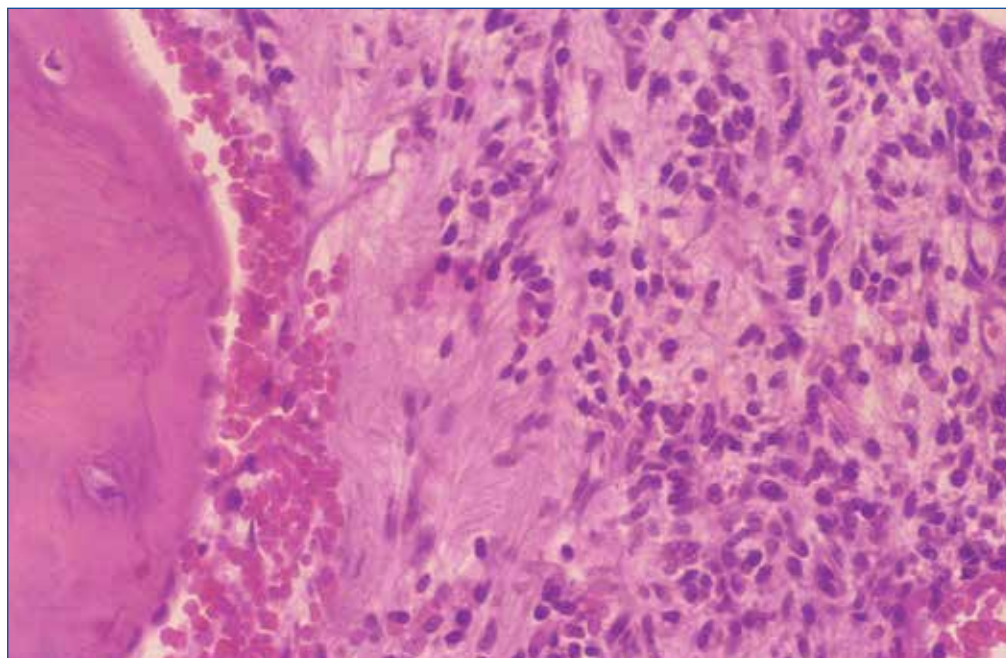


Figura 13. Mieloma mielofibrótico: bandas de fibrosis, junto a la infiltración plasmocitaria (HE × 400).

plasmocitosis policlonales), especialmente en casos de escasa infiltración medular⁽²⁰⁾, al ser frecuentemente positivo en el primero y negativo en las 2 últimas.

2.3.5. Alteraciones del estroma

Consiste fundamentalmente en un refuerzo de la trama reticulínica, o fibrosis de grado variable, con o sin

“fibrosis colágena”, y de la existencia de alteraciones del componente vascular. En el primer caso, es conocida la existencia de un tipo de mieloma asociado a mielofibrosis significativa (alrededor de un 9-10% de los casos), denominado por algunos autores mieloma “mielofibrótico” (Figuras 13 y 14)^(21,22); globalmente, en aproximadamente la tercera parte de las BMO de los pacientes con mieloma se aprecia cierto grado de fibrosis⁽¹³⁾. El MM IgD lambda, si bien ex-

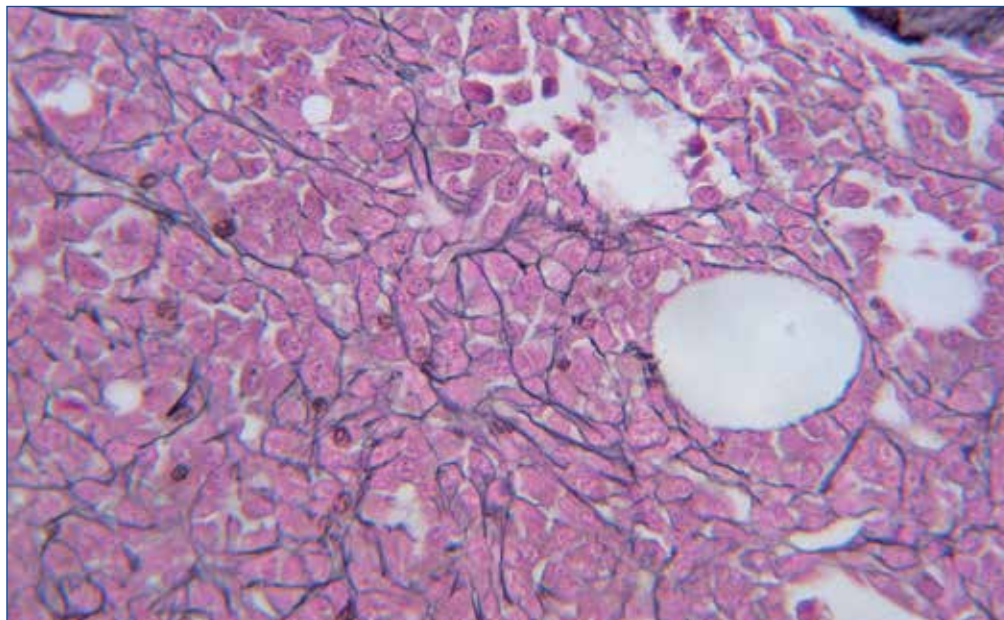


Figura 14. Mieloma mielofibrótico. Fibrosis reticulínica de grado III (Reticulina de Wilder × 250).

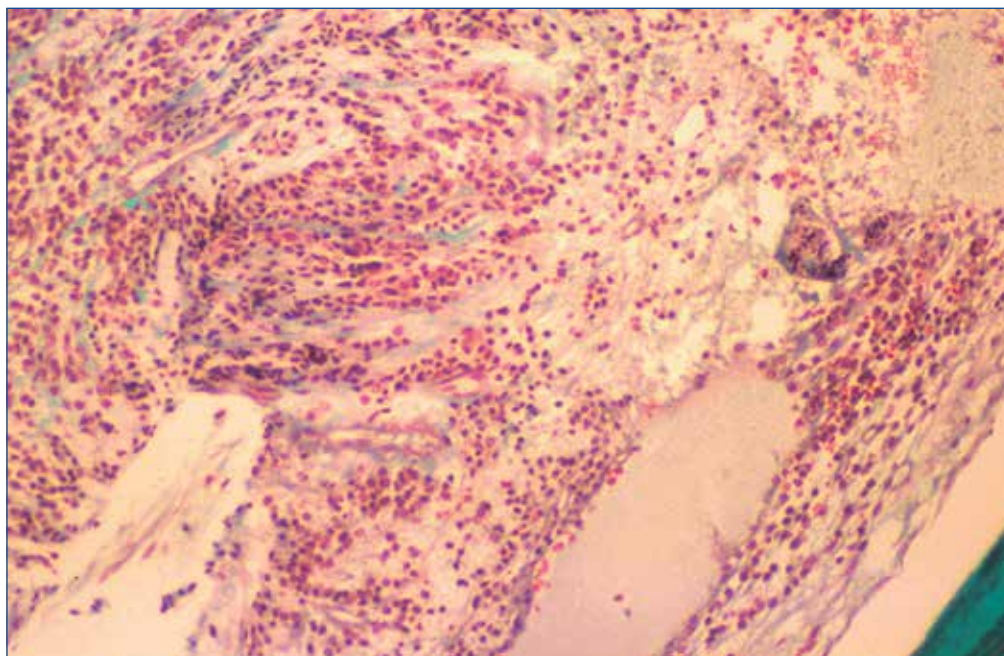


Figura 15. Mieloma mielofibrótico. Fibrosis colágena (Tricrómico de Masson $\times 250$).

traordinariamente raro, se asocia clásicamente con mielofibrosis⁽²³⁾. La fibrosis “colágena” (**Figura 15**) es poco frecuente, pero se ha descrito alguna forma de mieloma osteosclerótico al margen del más conocido asociado al síndrome POEMS⁽²⁴⁻²⁶⁾. Esta posibilidad de diagnosticar un mieloma “fibrótico” es suficiente para algunos autores para establecer la necesidad de realizar BMO al diagnóstico de la enfermedad, sobre todo basándose en el peor pronóstico que le confiere⁽²⁷⁾.

En cuanto al estudio de la microvasculatura, se ha demostrado una mayor actividad proliferativa endotelial y una mayor densidad de microvasos en las médulas de pacientes con mieloma, cuando se comparan con las de sujetos con GMSI, siendo equiparables las de estos últimos a las de individuos sanos⁽²⁸⁾. Sin embargo, existe controversia acerca de que el grado de angiogénesis constituya un factor importante desde un punto de vista pronóstico y de supervivencia en pacientes con mieloma. Así, mientras unos autores demuestran que la densidad de microvasos en la médula, determinada por la positividad del endotelio para CD34, se correlaciona con el grado de infiltración plasmocítica y con la concentración sérica de beta-2-microglobulina, ambos reconocidos factores pronósticos⁽²⁹⁾, otros no encuentran relación entre esa mayor densidad de microvasos (asociada a una mayor expresión del factor de crecimiento endotelial vascular) y la su-

pervivencia global de los pacientes⁽³⁰⁾. Son necesarios más estudios para establecer definitivamente el papel pronóstico del aumento de la actividad angiogénica en los enfermos con mieloma y, si existiera tal correlación, las posibles aplicaciones prácticas de este hallazgo.

2.3.6. Datos morfológicos de osteopatía

Clásicamente, se distinguen 2 formas de osteopatía en el MM: la osteolisis atrófica (una atrofia trabecular difusa consistente en la osteopenia propia del estadio I de la clasificación de Durie y Salmon) y la hiperactividad osteoclástica (caracterizada fundamentalmente por la presencia de “erosiones” trabeculares en las zonas donde existe mayor presencia tumoral)⁽¹⁾. Mediante técnicas inmunohistoquímicas se ha podido comprobar que las células plasmáticas malignas pueden sintetizar *in vivo* la proteína relacionada con la hormona paratiroidea y ello podría contribuir a la aparición de la osteolisis y la hipercalcemia en pacientes con mieloma avanzado⁽³¹⁾. Existe una correlación significativa entre la actividad osteoclástica (determinada por el número de osteoclastos teñidos específicamente mediante fosfatasa ácida) por área ósea trabecular, la presencia de lesiones líticas y la carga tumoral medular⁽³²⁾. También pueden observarse fenómenos de resorción de la sus-

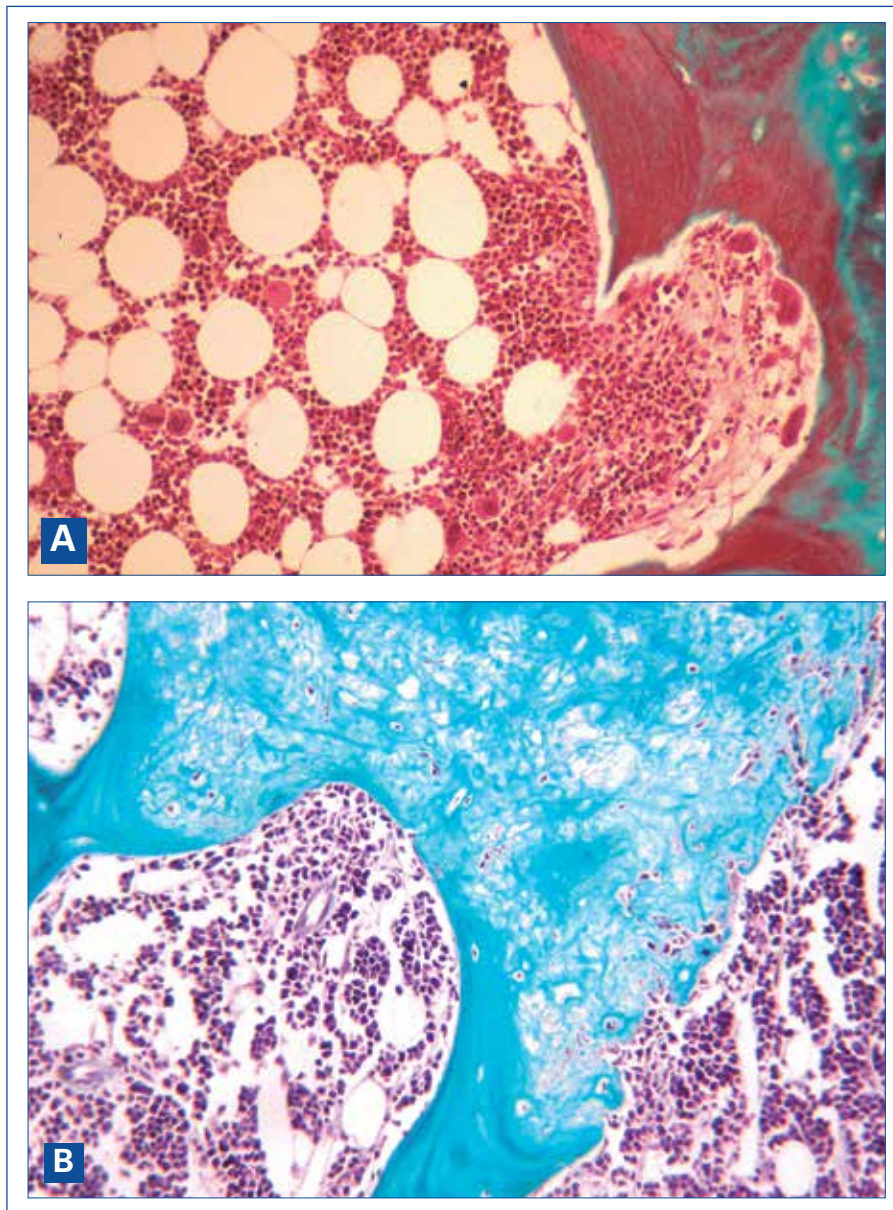


Figura 16. Afectación ósea por mieloma múltiple. A: lesión resortiva con actividad osteoclástica en un mieloma múltiple (Tricrómico de Masson \times 250); B: alteración de la cualidad ósea (Tricrómico de Masson \times 250).

tancia ósea fundamental (**Figuras 16 A y B**). En la **Figura 16A** se puede apreciar una peculiar lesión resortiva de la sustancia ósea fundamental en un mieloma.

2.3.7. Investigación de amiloidosis

La BMO puede coadyuvar (e incluso suplir) a las biopsias rectal, gingival o de grasa subcutánea en el diagnóstico de amiloidosis en pacientes con mieloma y, en cualquier caso, se trata de un procedimiento superior al aspirado medular, al demostrar más claramente el

depósito de amiloide (**Figura 17A**). Por tanto, ante un caso de mieloma en el que quiera descartarse la amiloidosis, se recurrirá antes a la BMO (pues además informa sobre el tumor y el hueso) que a la de otros tejidos. Por otra parte, la BMO revela la existencia de una discrasia de células plasmáticas en un elevado porcentaje de casos de amiloidosis de tipo AL (primaria)^(33,34). La disposición del material amiloide, puesta de manifiesto mediante tinciones habituales como el PAS (**Figura 17B**) o especiales como la del rojo Congo (**Figura 18A**) o inmunohistoquímicas, sobre todo antiproteína amiloide (**Figura 18B**), más frecuentemente observada en

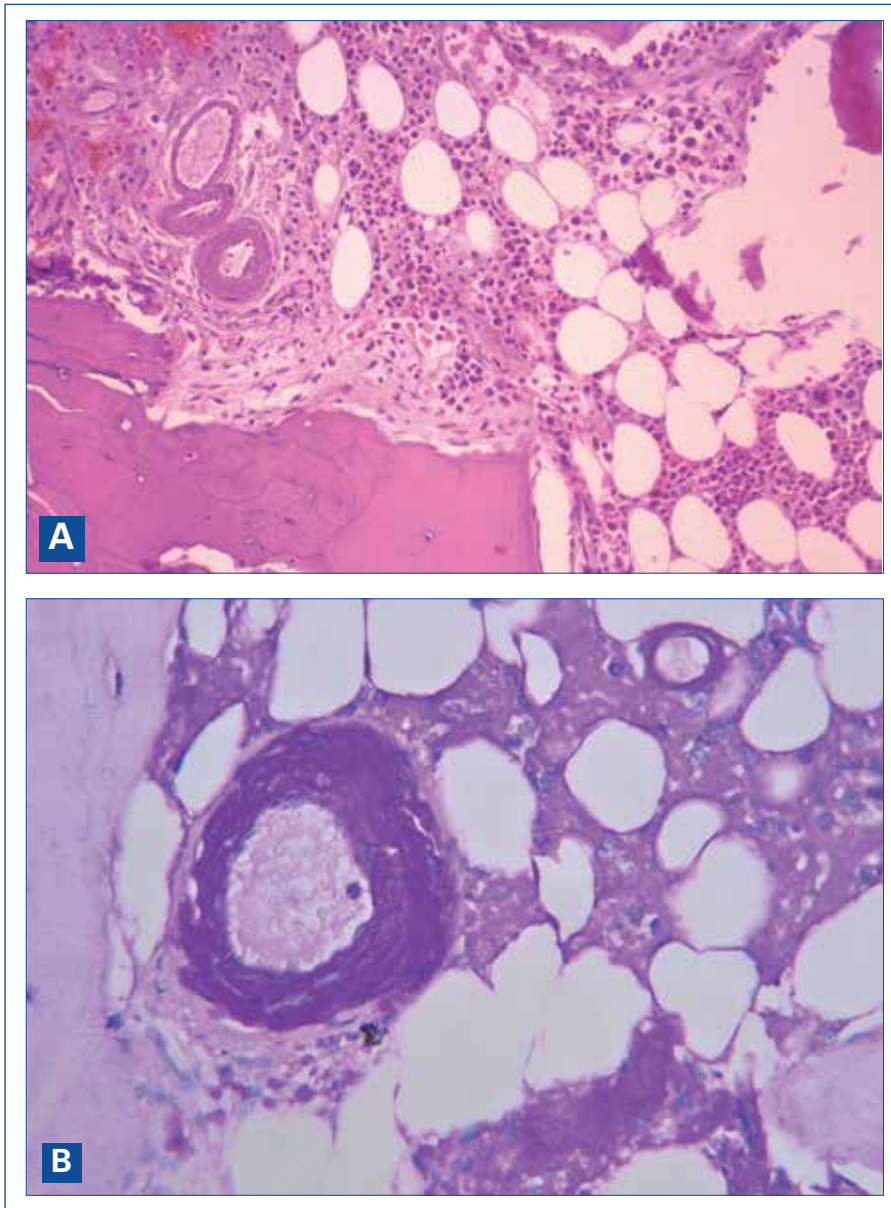


Figura 17. Amiloidosis. A: vasos de pared muscular, engrosada por material anhisto eosinófilo (HE \times 250); B: PAS positividad del material amiloide en la pared vascular y en el intersticio (\times 400).

la pared de los vasos medulares de mediano calibre o bien de forma amorfa en el intersticio del parénquima medular, ayudará al diagnóstico de esta complicación. Se han descrito 3 patrones de infiltración medular: vascular, extravascular/perivascular focal y difuso⁽³⁵⁾.

2.3.8. Valor pronóstico del conjunto de hallazgos histomorfológicos

Desde hace tiempo, la carga tumoral medular, ya bien fuera valorada mediante aspirado o biopsia

medulares, se considera un factor pronóstico en los pacientes con mieloma⁽³⁶⁾. Además, recientemente, algunos autores han referido la importancia pronóstica que tiene la evaluación de algunas de las características histológicas mencionadas, en cuanto a la supervivencia de los pacientes. Aquellos con unas células plasmáticas poco diferenciadas, un patrón difuso de afectación medular y una fibrosis significativa sobrevivieron menos de 1 año; por el contrario, los que mostraban un mieloma de células plasmáticas bien diferenciadas, un patrón intersticial y una carga tumoral medular inferior al 20% sin

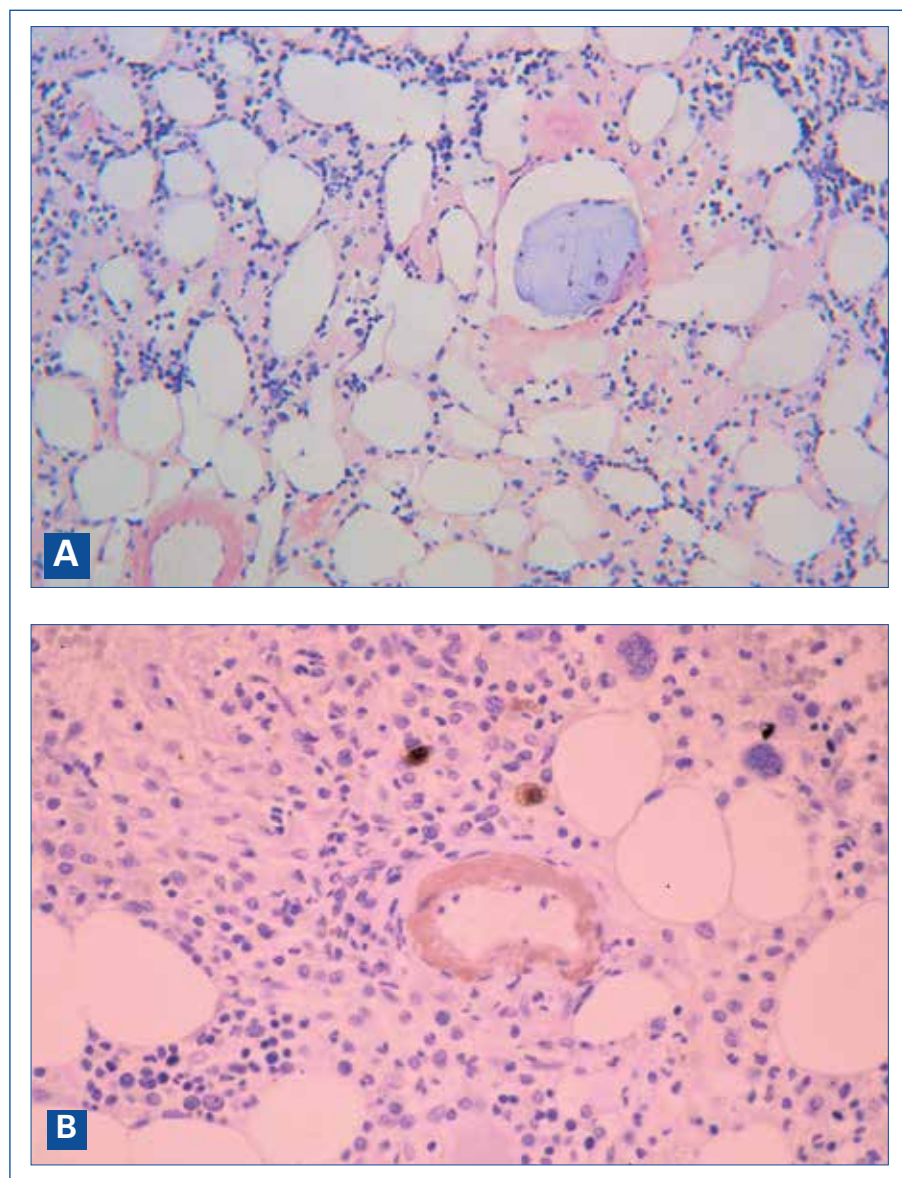


Figura 18. Amiloidosis. A: positividad a la tinción de rojo Congo en pared de vasos e intersticio ($\times 400$); B: inmunohistoquímica de la sustancia amiloide (Anti-proteína AA $\times 400$).

presencia de fibrosis tuvieron una supervivencia superior a 5 años⁽¹⁴⁾.

3. Enfermedad de Waldenström

3.1. Concepto

La definición de la EW, desde un punto de vista del establecimiento de unos criterios diagnósticos, no ha resultado sencilla. Resulta evidente que el diagnóstico de EW debe ser clínico-patológico y circunscribirse a pacientes con afectación medular

por un linfoma linfoplasmocítico secretor de IgM, no solo a sujetos con un determinado componente monoclonal de IgM en plasma⁽³⁷⁾. Los criterios diagnósticos han ido evolucionando y, así, en 2002 se proponían los siguientes: a) gammapatía monoclonal IgM a cualquier concentración; b) infiltración medular por linfocitos pequeños que muestran diferenciación plasmocitoide o plasmocítica; c) patrón intertrabecular de la infiltración medular; y d) inmunofenotipo: sIgM+, CD5±, CD10–, CD19+, CD20+, CD22+, CD23–, CD25+, CD27+, FMC7+, CD103–, CD138–⁽³⁸⁾. Modificada más recientemente, para establecer el diagnóstico basta la presen-

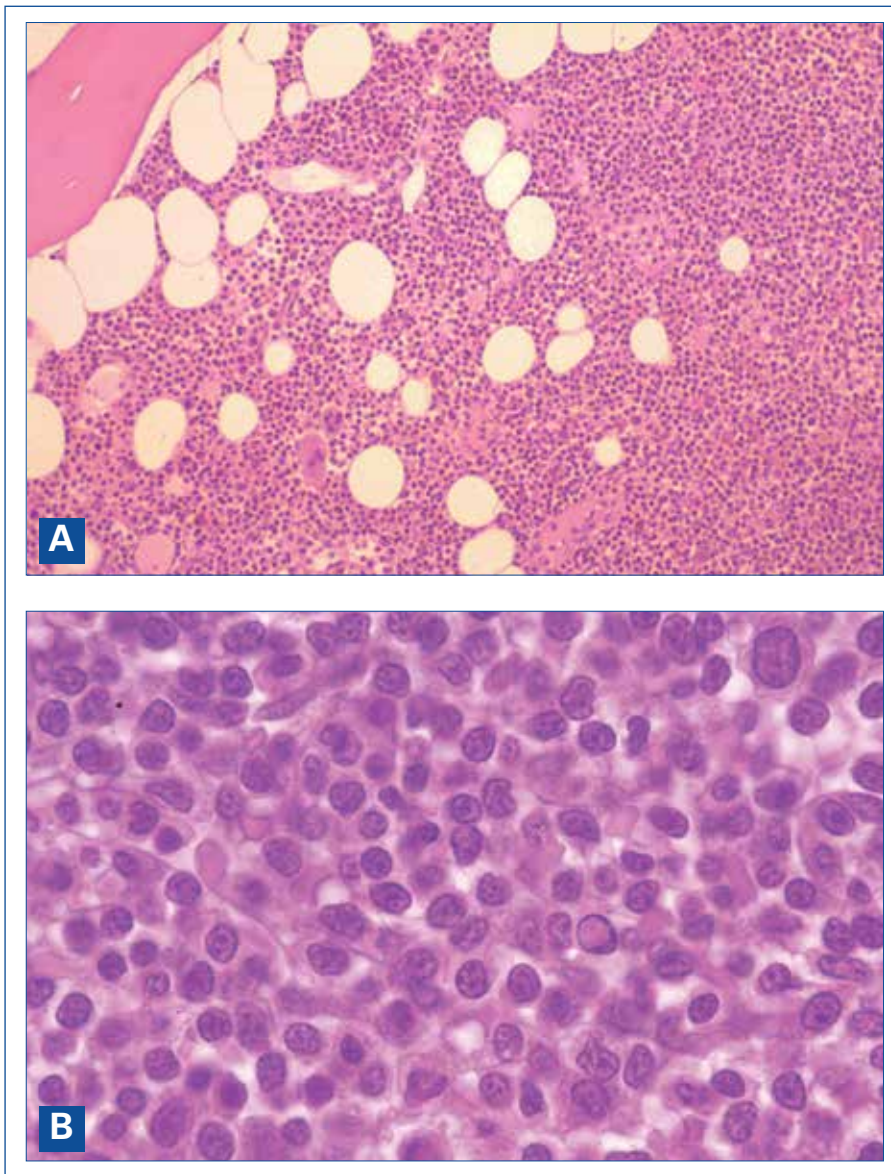


Figura 19. Enfermedad de Waldenström. A: afectación medular por células neoplásicas linfoplasmocíticas (HE \times 250); B: detalles morfológicos del mismo caso (HE \times 1.000).

cia de una paraproteína IgM monoclonal asociada a una población de células linfoplasmocíticas clonales $\geq 10\%$ (con un fenotipo compatible) en la médula ósea⁽³⁹⁾. La mutación L265P en *MYD88* se detecta en más del 90% de los pacientes^(39,40).

En el diagnóstico diferencial de la EW se incluyen la GMSI-IgM, el mieloma IgM, la amiloidosis AL y otras neoplasias linfoides B con eventual diferenciación plasmocítica, como el linfoma de la zona marginal, la leucemia linfocítica crónica, el linfoma folicular y el linfoma del manto⁽⁴⁰⁾. En la evolución inicial de estos pacientes se debe realizar un aspirado y una biopsia medulares para diagnosticar la

EW y descartar otras enfermedades asociadas a una paraproteína IgM⁽⁴¹⁾.

3.2. Principales hallazgos histopatológicos

La afectación medular, que ocurre en más del 95% de los casos, se corresponde con la de un linfoma de células pequeñas, que morfológicamente oscilan entre linfocitos pequeños, linfocitos linfoplasmocitoides y células plasmáticas (Figuras 19 y 20). Hace más de 30 años, se postulaban 3 patrones fundamentales de afectación medular: nodular,

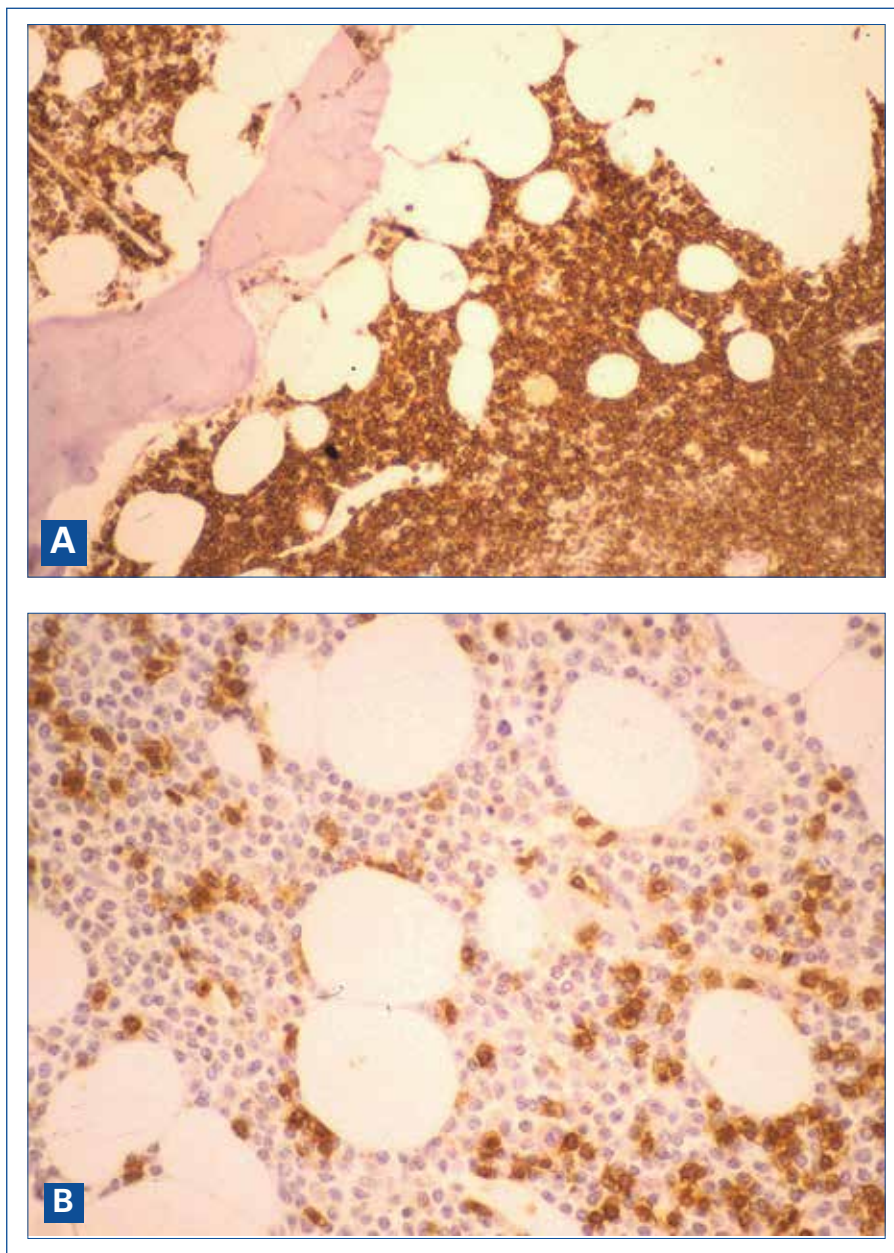


Figura 20. Enfermedad de Waldenström. A: positividad para CD20 de las células neoplásicas ($\times 250$); B: mismo caso con anti-CD3 ($\times 400$).

mixto nodular/intersticial y difuso; no se describía el patrón intersticial puro⁽⁴²⁾. En la actualidad, se reconocen 4 patrones como posibles al diagnóstico (**Figuras 21 y 22**): nodular, intersticial, paratrabecular y difuso, siendo los más frecuentes los 2 primeros y más raro el último, y observándose a menudo formas mixtas de infiltración⁽⁴³⁾. En este sentido, el patrón de afectación medular no es muy útil a la hora de diferenciar la EW de otros síndromes linfoproliferativos crónicos de naturaleza B; de hecho, el patrón paratrabecular, en principio reconocido

como más propio de linfomas foliculares, se puede observar en más del 40% de los casos de EW según las distintas series, si bien como patrón único es excepcional en esta enfermedad.

La existencia de cuerpos de Dutcher (inclusiones intranucleares PAS positivas, redondeadas y generalmente únicas) (**Figura 23**) y un aumento de mastocitos maduros típicos (generalmente alrededor de las áreas de infiltración linfomatosa) (**Figura 24**), siendo hallazgos frecuentes en la EW, no se pueden considerar definitorios, pues se pueden encontrar

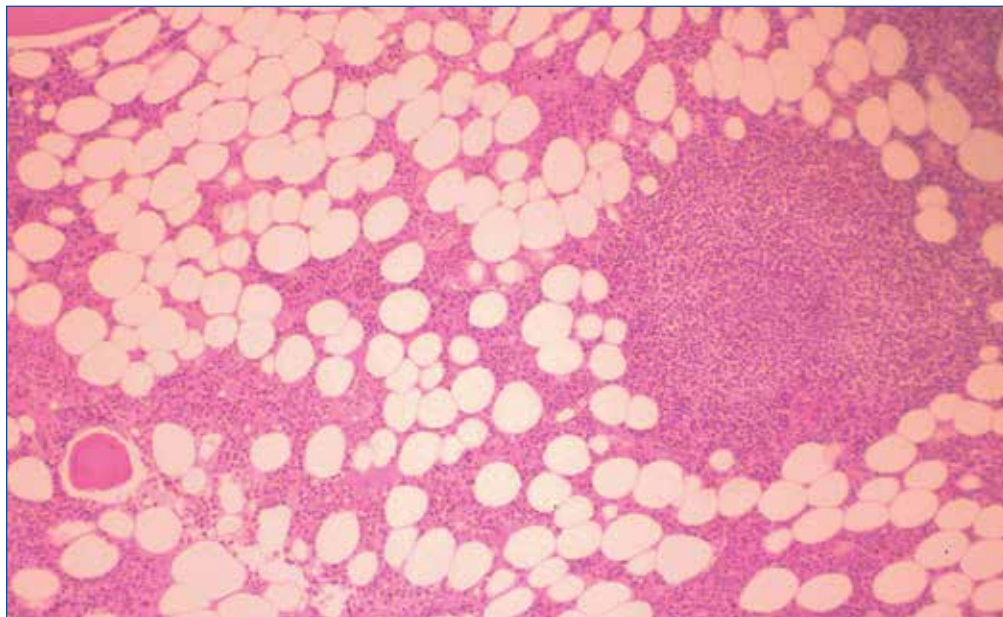


Figura 21. Enfermedad de Waldenström. Patrón nodular (HE \times 250).

en otras enfermedades linfoproliferativas; con todo, casi nunca faltan los mastocitos en estos infiltrados. Es prácticamente constante la fibrosis que, a diferencia de la tricoleucemia (otro síndrome linfoproliferativo en el que la fibrosis medular está presente prácticamente siempre), es predominantemente reticulínica y muy rara vez "colágena." Finalmente, aunque se constata que en un 30% de estos pacientes existe un aumento de la angiogénesis, ni el grado de

la misma ni la densidad de microvasos en la médula ósea parecen constituir factores pronósticos que se puedan relacionar con la supervivencia⁽⁴⁴⁾.

4. Consideraciones prácticas

De todo lo anteriormente expuesto, podemos extraer la idea de que la BMO constituye un proce-

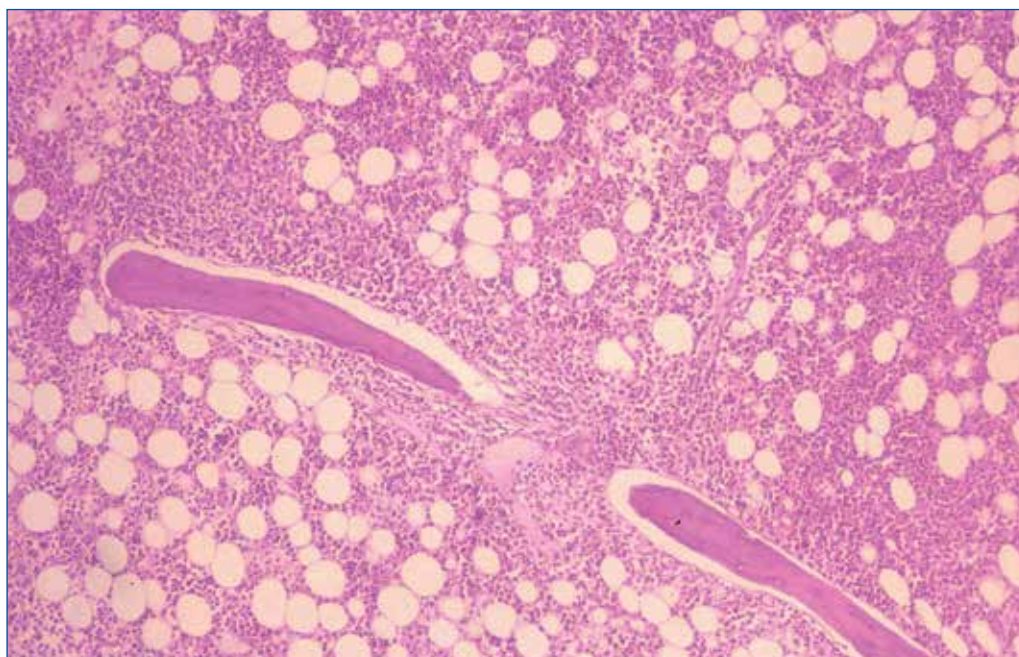


Figura 22. Enfermedad de Waldenström. Patrón paratrabecular (HE \times 250).

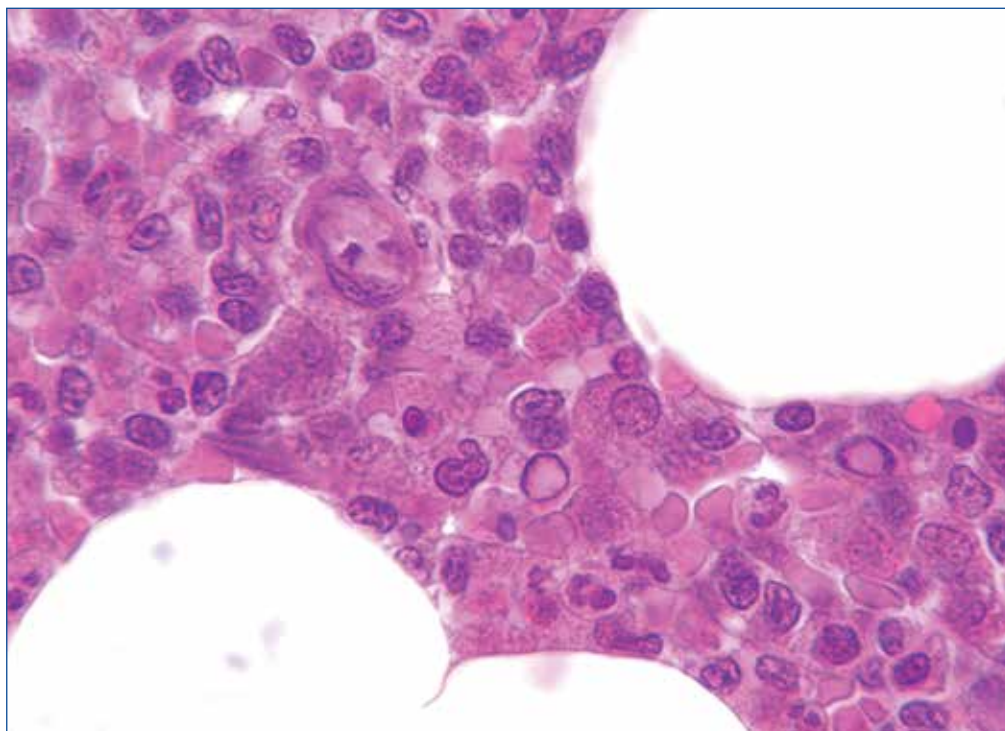


Figura 23. Enfermedad de Waldenström. Cuerpos de Dutcher (HE $\times 1.000$).

dimiento de utilidad demostrada en el diagnóstico de las gammopatías monoclonales, cuando el aspirado no es concluyente, en un paciente en el que los datos clínicos, analíticos o radiológicos son muy sugestivos de mieloma. Además, ante un caso

de mieloma en el que quiera descartarse la existencia de amiloidosis acompañante, circunstancia probablemente más frecuente de lo sospechado, la biopsia medular es preferible a la biopsia de otras localizaciones, al demostrar de forma clara la exis-

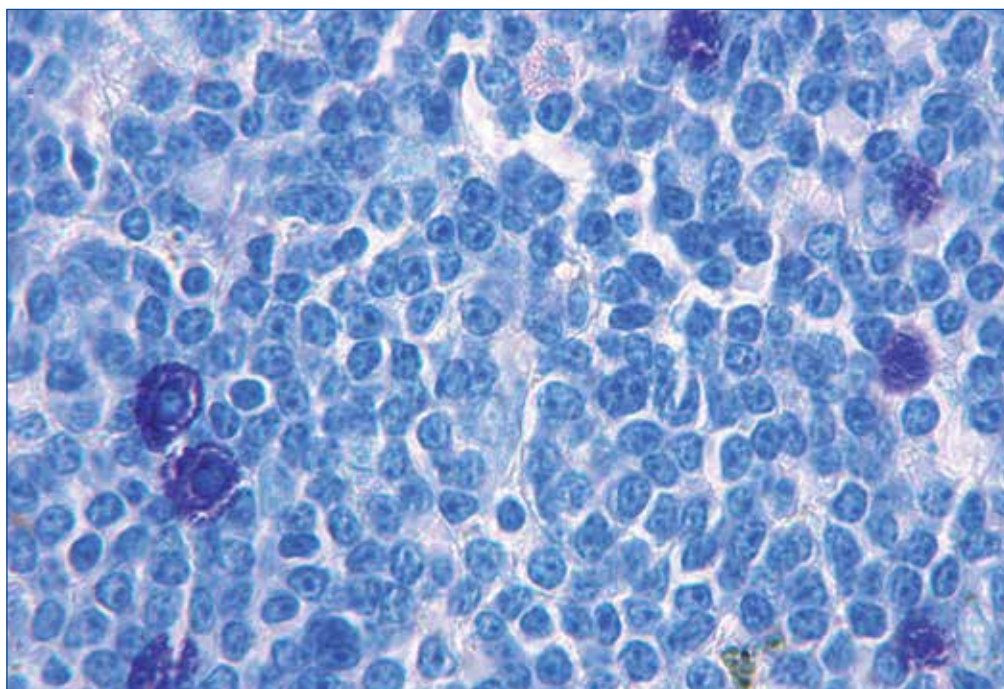


Figura 24. Enfermedad de Waldenström. Frecuentes mastocitos junto al infiltrado linfoplasmocítico (Giemsa $\times 1.000$).

tencia de depósitos de amiloide e informar sobre el propio mieloma y las características del hueso. La biopsia medular, por otro lado, puede proporcionar información que tenga trascendencia pronóstica en los pacientes con MM, lo cual podría justificar por sí mismo la necesidad de realizar esta prueba. Finalmente, en el caso de la EW, la propia definición de esta enfermedad incluye la demostración de un infiltrado linfoplasmocítico clonal en la médula ósea, como dato fundamental, lo cual hace prácticamente imprescindible la realización de biopsia medular en estos pacientes.

5. Bibliografía

1. Bain B, Clark DM, Wilkins BS. Bone marrow pathology. 4th edition. Wiley-Blackwell; 2010. pp. 421-60.
2. Bain BJ. Bone marrow trephine biopsy. *J Clin Pathol*. 2001;54:737-42.
3. Pileri S, Poggi S, Baglioni P, Montanari M, Sabattini E, Galieni P, et al. Histology and immunohistology of bone marrow biopsy in multiple myeloma. *Eur J Haematol*. 1989;51(Suppl):52-9.
4. Schmidt C, Isaacson PG. Bone marrow trephine biopsy in lymphoproliferative disease. *J Clin Pathol*. 1992;45:745-50.
5. Charles KS, Winfield DA, Angel C, Goepel J. Audit of bone marrow aspirates and trephine biopsies in multiple myeloma – a single centre study. *Clin Lab Haematol*. 2004;26:403-6.
6. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol*. 2014;15:e538-e548.
7. Lee N, Moon SY, Lee JH, Park HK, Kong SY, Bang SM, et al. Discrepancies between the percentage of plasma cells in bone marrow aspiration and BM biopsy: impact on the revised IMWG diagnostic criteria of multiple myeloma. *Blood Cancer J*. 2017;7:e530.
8. Riccardi A, Ucci G, Luoni R, Castello A, Coci A, Magrini U, et al. Bone marrow biopsy in monoclonal gammopathies: correlations between pathological findings and clinical data. The Cooperative Group for Study and Treatment of Multiple Myeloma. *J Clin Pathol*. 1990;43:469-75.
9. Terpstra WE, Lokhorst HM, Blomjous F, Meuwissen OJ, Dekker AW. Comparison of plasma cell infiltration in bone marrow biopsies and aspirates in patients with multiple myeloma. *Br J Haematol*. 1992;82:46-9.
10. Al-Quran SZ, Yang L, Magill JM, Braylan RC, Douglas-Nikitin VK. Assessment of bone marrow plasma cell infiltrates in multiple myeloma: the added value of CD138 immunohistochemistry. *Hum Pathol*. 2007;38:1779-87.
11. Ng AP, Wei A, Bhurani D, Chapple P, Feleppa F, Juneja S. The sensitivity of CD138 immunostaining of bone marrow trephine specimens for quantifying marrow involvement in MGUS and myeloma, including samples with a low percentage of plasma cells. *Haematologica*. 2006;91:972-5.
12. Bartl R, Frisch B, Fateh-Moghadam A, Kettner G, Jäger K, Sommerfeld W. Histologic classification and staging of multiple myeloma: a retrospective study of 674 cases. *Am J Clin Pathol*. 1987;87:342-55.
13. De la Rosa-Alcaide A, Hernández-Nieto L, Hernández-García MT, Brito-Barroso ML. Tipos celulares en el mieloma múltiple: análisis de la correspondencia en aspirado y biopsia medulares según dos clasificaciones. *Sangre*. 1989;34:313-4.
14. Singhal N, Singh T, Singh ZN, Shome DK, Gaiha M. Histomorphology of multiple myeloma on bone marrow biopsy. *Indian J Pathol Microbiol*. 2004;47:359-63.
15. Grogan TM. Plasma cell myeloma marrow diagnosis including morphologic and phenotypic features. *Semin Diagn Pathol*. 2003;20:211-25.
16. Chilosi M, Adami F, Lestani M, Montagna L, Cimarosto L, Semenzato G, et al. CD138/syndecan-1: a useful immunohistochemical marker of normal and neoplastic plasma cells on routine trephine bone marrow biopsies. *Mod Pathol*. 1999;12:1101-6.
17. O'Connell FP, Pinkus JL, Pinkus GS. CD138 (syndecan-1), a plasma cell marker immunohistochemical profile in hematopoietic and nonhematopoietic neoplasms. *Am J Clin Pathol*. 2004;121:254-63.
18. Menter T, Abdulsalam AH, Nadal-Melsio E, Yebra-Fernández E, Flora RS, Ahmad R, et al. Correlation of multiparameter flow cytometry and bone marrow trephine immunohistochemistry in the identification and characterization of neoplastic plasma cells. *Br J Haematol*. 2016 Jul 5. [Epub ahead of print].
19. Raya JM, Brito ML, González-Brito G, Caballero MM, González BJ, Machado P, et al. Plasma cells of patients with “smouldering” myeloma show intermediate phenotypic features between MGUS and multiple myeloma. *J Hematol*. 2000;1(Suppl. 1):165-6.
20. Martin P, Santon A, Bellas C. Neural cell adhesion molecule expression in plasma cells in bone marrow biopsies and aspirates allows discrimination between multiple myeloma, monoclonal gammopathy of uncertain significance and polyclonal plasmacytosis. *Histopathology*. 2004;44:375-80.

21. Krzyzaniak RL, Buss DH, Cooper MR, Wells HB. Marrow fibrosis and multiple myeloma. *Am J Clin Pathol.* 1988;89:63-8.
22. Schmidt U, Ruwe M, Leder LD. Multiple myeloma with bone marrow biopsy features simulating concomitant chronic idiopathic myelofibrosis. *Nouv Rev Fr Hematol.* 1995;37:159-63.
23. Kanoh T, Okuma M. [IgD (lambda) multiple myeloma associated with myelofibrosis: an isolated case of nuclear physicist]. *Rinsho Ketsueki.* 1996;37:244-8.
24. McCluggage WG, Jones FG, Hull D, Bharucha H. Sclerosing IgA multiple myeloma. *Acta Haematol.* 1995;94:98-101.
25. Mulleman D, Gaxatte C, Guillem G, Leroy X, Cotten A, Duquesnoy B, et al. Multiple myeloma presenting with widespread osteosclerotic lesions. *Joint Bone Spine.* 2004;71:79-83.
26. Lacy MQ, Gertz MA, Hanson CA, Inwards DJ, Kyle RA. Multiple myeloma associated with diffuse osteosclerotic bone lesions: a clinical entity distinct from osteosclerotic myeloma (POEMS syndrome). *Am J Hematol.* 1997;56:288-93.
27. Subramanian R, Basu D, Dutta TK. Significance of bone marrow fibrosis in multiple myeloma. *Pathology.* 2007;39:512-5.
28. De Raeve HR, Vermeulen PB, Vanderkerken K, Harris AL, Van Marck E. Microvessel density, endothelial-cell proliferation and carbonic anhydrase IX expression in haematological malignancies, bone-marrow metastases and monoclonal gammopathy of undetermined significance. *Virchows Arch.* 2004;445:27-35.
29. Sezer O, Niemoller K, Jakob C, Zavrski I, Heider U, Eucker J, et al. Relationship between bone marrow angiogenesis and plasma cell infiltration and serum beta2-microglobulin levels in patients with multiple myeloma. *Ann Hematol.* 2001;80:598-601.
30. Choi JH, Ahn MJ, Jang SJ, Park CK, Park YW, Oh HS, et al. Absence of clinical prognostic value of vascular endothelial growth factor and microvessel density in multiple myeloma. *Int J Hematol.* 2002;76:460-4.
31. Zeimer H, Firkin F, Grill V, Slavin J, Zhou H, Martín TJ. Assessment of cellular expression of parathyroid hormone-related protein mRNA and protein in multiple myeloma. *J Pathol.* 2000;192:336-41.
32. Thiele J, Arenz B, Klein H, Vierbuchen M, Zankovich R, Fischer R. Differentiation of plasma cell infiltrates in the bone marrow. A clinicopathological study on 80 patients including immunohistochemistry and morphometry. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol.* 1988;412:553-62.
33. Swan N, Skinner M, O'Hara CJ. Bone marrow core biopsy specimens in AL (primary) amyloidosis. A morphologic and immunohistochemical study in 100 cases. *Am J Clin Pathol.* 2003;20:610-6.
34. Saba M, Tohme A, Abadjian G, Haddad F, Ghayad E. [Multi-systemic amyloidosis. Clinical study of 39 patients in Lebanon]. *Press Med.* 2005;34:640-6.
35. Krause JR. Value of bone marrow biopsy in the diagnosis of amyloidosis. *South Med J.* 1977;70:1072-4.
36. Brink S, Bradshaw D, Rosenstrauch WJ, Van der Merwe AM. Prognostic factors in multiple myeloma. *S Afr Med J.* 1986;69:35-8.
37. Treon SP, Dimopoulos M, Kyle R. Defining Waldenström's macroglobulinemia. *Semin Oncol.* 2003;30:107-9.
38. Owen RG, Treon SP, Al-Katib A, Fonseca R, Greipp PR, McMaster ML, et al. Clinicopathological definition of Waldenström's macroglobulinemia: Consensus panel recommendations from the Second International Workshop on Waldenström's macroglobulinemia. *Semin Oncol.* 2003;30:110-5.
39. Gertz MA. Waldenström macroglobulinemia: 2017 update on diagnosis, risk stratification, and management. *Am J Hematol.* 2017;92:209-17.
40. Swerdlow SH, Kuzu I, Dogan A, Dirnhofer S, Chan JK, Sander B, et al. The many faces of small B cell lymphomas with plasmacytic differentiation and the contribution of MYD88 testing. *Virchows Arch.* 2016;468:259-75.
41. Castillo JJ, García-Sanz R, Hatjiharissi E, Kyle R, Leleu X, McMaster ML, et al. Recommendations for the diagnosis and initial evaluation of patients with Waldenström Macroglobulinemia: a Task Force from the 8th International Workshop on Waldenström Macroglobulinemia. *Br J Haematol.* 2016;175:77-86.
42. Bartl R, Frisch B, Mahl G, Burkhardt R, Fateh-Moghadam A, Pappenberger R, et al. Bone marrow histology in Waldenström's macroglobulinemia. *Scand J Haematol.* 1983;31:359-75.
43. Remstein ED, Hanson CA, Kyle RA, Hodnefield JM, Kurtin PJ. Despite apparent morphologic and immunophenotypic heterogeneity, Waldenström's macroglobulinemia is consistently composed of cells along a morphologic continuum of small lymphocytes, plasmacytoid lymphocytes, and plasma cells. *Semin Oncol.* 2003;30:182-6.
44. Rajkumar SV, Hayman S, Greipp PR. Angiogenesis in Waldenström's macroglobulinemia. *Semin Oncol.* 2003;30:262-4.

Exploraciones de imagen (I): tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa en combinación con tomografía computarizada (FDG-PET/TC) *versus* biopsia de médula ósea, en mieloma múltiple y linfomas

María Dolores Cabello García, Miguel T. Hernández García

1. Tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa en combinación con tomografía computarizada en la evaluación de la afectación de la médula ósea en el mieloma múltiple

En el mieloma múltiple (MM), la existencia de afectación ósea tiene un importante impacto clínico, ya que conduce a un aumento del dolor y a inestabilidad ósea. Las complicaciones neurológicas son una causa de morbilidad, ya que las lesiones líticas pueden producir compresión de la médula espinal o radiculopatía. La correcta evaluación de una posible afectación de la médula ósea (MO), la identificación de lesiones óseas y de enfermedad extramedular son esenciales en la valoración del MM⁽¹⁾.

Recientemente, la tomografía por emisión de positrones (PET) con fluorodeoxiglucosa (FDG) en combinación con tomografía computarizada (TC), o conjuntamente FDG-PET/TC, se ha empleado en la estadificación de los pacientes con MM⁽²⁻⁴⁾, en la evaluación de la respuesta al tratamiento⁽⁵⁾, en la detección de la enfermedad extramedular⁽⁶⁾ y en el estudio de la recaída de la enfermedad^(5,7). Es una técnica que puede diferenciar el mieloma activo con avidez por la FDG de la gammapatía monoclonal de

significado incierto (GMSI) y del MM quiescente, ya que ambas entidades suelen tener un estudio FDG-PET/TC negativo⁽⁸⁾.

La FDG-PET/TC puede ser una herramienta útil, con una elevada sensibilidad y especificidad, en la detección de la presencia de mieloma en lesiones óseas y/o afectación de la MO al comienzo de la enfermedad^(2,3). Sin embargo, la principal limitación de esta técnica es la falta de sensibilidad en la detección de un patrón difuso de infiltración de la MO, mientras que muestra una elevada sensibilidad en la detección de enfermedad extramedular. La sensibilidad y especificidad de esta técnica en la detección de enfermedad extramedular es de un 96 y un 78%, respectivamente^(9,10).

Incluso, la combinación de la resonancia magnética de cuerpo completo (WB-MRI) y la FDG-PET/TC en la estadificación permite detectar enfermedad activa, a nivel medular y extramedular, con una sensibilidad del 92% y un valor predictivo positivo de un 100%^(4,11), ayudando la MRI en la detección de ese patrón difuso de afectación de la MO. Ambas técnicas, MRI y FDG-PET/TC se contemplan en el sistema de estadificación de Durie-Salmon PLUS, que nunca llegó a generalizarse⁽¹²⁾.

Algunos estudios encontrados en la literatura han comprobado que alrededor de un tercio de los

pacientes con lesiones intramedulares pueden no ser detectados por la FDG-PET/TC⁽¹³⁾. Otros autores como Sager *et al.*⁽¹⁴⁾, en un estudio de 42 pacientes, demostraron que la FDG-PET/TC es una técnica útil para la valoración del MM y afirmaron que la correlación entre el SUVmax (que representa la intensidad del metabolismo tumoral) y la tasa de células plasmáticas en la biopsia de MO (BMO) puede evitar repetir las biopsias en el seguimiento clínico del paciente, como un procedimiento invasivo y doloroso innecesario. Sin embargo, en Europa se utiliza con más frecuencia el aspirado de MO (AMO) que la BMO. En cualquier caso, son pocos los estudios de los que se dispone hasta el momento sobre la posibilidad de omitir la BMO en los pacientes con MM, por lo que es necesario continuar las investigaciones.

En lo que respecta a la significación pronóstica de esta técnica de imagen, la FDG-PET/TC se ha visto que tiene significación pronóstica en el estudio de extensión, en la valoración de la respuesta precoz y al final del tratamiento, y durante el seguimiento clínico^(4,7). Bartel *et al.*⁽⁷⁾ estudiaron 303 pacientes con MM sintomático y demostraron que varios parámetros de imagen relacionados con la carga tumoral, como el número de lesiones focales en hueso/MO (evaluados por MRI y FDG-PET/TC), la intensidad del metabolismo tumoral (SUVmax) y la enfermedad extramedular, afectaban la supervivencia.

En un estudio prospectivo realizado por Zamagni *et al.*⁽⁴⁾, en un total de 192 pacientes diagnosticados de MM, se demostró que la FDG-PET/TC es un predictor fiable del pronóstico. La presencia de al menos 3 lesiones focales, la intensidad del metabolismo tumoral representado por el valor del SUV (un SUVmax > 4,2) y la presencia de enfermedad extramedular fueron predictores potentes de un resultado clínico desfavorable, que afectaron negativamente a la supervivencia libre de progresión y a la supervivencia global.

Nuevas técnicas de imagen como la FDG-PET/MRI⁽¹⁵⁾ se han presentado como prometedoras herramientas para el manejo de pacientes con MM. La PET en combinación con la MRI es una innovadora y prometedora técnica, en la que la imagen funcional (PET) detecta las lesiones focales activas,

mientras que la imagen estructural (MRI) muestra la localización anatómica de las lesiones y proporciona información de la infiltración de la MO (sobre todo del patrón difuso de afectación de la misma). Sin embargo, la FDG-PET/MRI no daría respuesta a todo, pues las osteolisis se ven mejor en la TC. Otra línea de mejora puede ser el uso de radiotrazadores distintos de la (18 F)-FDG. En este sentido, se están probando aminoácidos (como la metionina), la colina, marcadores de síntesis de ADN, receptores de membrana o marcadores de angiogénesis, habiéndose encontrado ya que algunos son superiores a la (18 F)-FDG en el mieloma⁽¹⁶⁾.

Concluyendo, podemos decir que la PET/TC es una exploración de primer orden, superior a la serie esquelética con radiografías convencionales, para detectar lesiones mielomatosas, tanto intramedulares como extramedulares. Además, es especialmente útil para el seguimiento de los pacientes tras recibir tratamiento. Pero no sustituye a la exploración directa de la MO, generalmente mediante AMO (en Europa) o BMO (en los EE. UU.), pues el porcentaje de células plasmáticas en la MO es imprescindible en los criterios diagnósticos actuales. Además, es necesario el análisis de la MO para el análisis citogenético. Por último, cada vez hay más evidencia, gracias a la efectividad de los tratamientos actuales, sobre la importancia de determinar la enfermedad mínima residual mediante citometría de flujo o secuenciación masiva con NGS (*next generation sequencing*). Por lo tanto, actualmente ambas exploraciones (BMO y FDG-PET/MRI) son complementarias en el estudio del MM.

2. Tomografía por emisión de positrones con fluorodeoxiglucosa en combinación con tomografía computarizada en la evaluación de la afectación de la médula ósea en linfomas

Los primeros criterios de respuesta aceptados universalmente para el linfoma no Hodgkin (LNH) y empleados también para el linfoma de Hodgkin (LH) fueron publicados en 1999 por el National Cancer Institute Working Group⁽¹⁷⁾ y revisados en 2007 por el

International Working Group (IWG)⁽¹⁸⁾ para incorporar la PET, la inmunohistoquímica de la MO y la citometría de flujo en la valoración de la respuesta⁽¹⁹⁾.

Casi todos los linfomas muestran avidez por la FDG y la mayoría de los datos que hay publicados hasta el momento están relacionados con el uso de la FDG-PET/TC en los LH y en los LNH agresivos (LNH difuso de células grandes B –LNHDCGB– y linfoma folicular –LF– agresivo), recomendándose la realización de esta exploración en el estudio de extensión rutinario de los pacientes con linfomas ávidos por la FDG como la prueba *gold standard* (excepto en la leucemia linfocítica crónica/linfoma linfocítico de células pequeñas, el linfoma linfoplasmocítico/macroglobulinemia de Waldenström, la micosis fungoide y los LNH de la zona marginal, a menos que haya una sospecha de transformación agresiva)⁽²⁰⁾.

2.1. Linfoma de Hodgkin

La FDG-PET/TC es una modalidad de imagen recomendada en las guías publicadas en 2014^(19,20) para el estudio de extensión y la valoración de la respuesta al final del tratamiento de los pacientes con LH. Es una prueba que permite la estadificación nodal y extranodal, incluyendo la valoración de una posible afectación de la MO, ya que el LH es una enfermedad maligna que, como se comentó anteriormente, muestra siempre avidez por la FDG⁽²¹⁾ y su empleo previo al tratamiento permite obviar la necesidad de realizar la BMO^(19,20).

Como ya es sabido, la BMO es un procedimiento invasivo, que produce malestar/molestias al paciente, tiene complicaciones (entre las que destaca el sangrado como la complicación más frecuente) y puede dar resultados falsos negativos, dado que la muestra que se toma es muy pequeña⁽²²⁾. Las principales ventajas de la FDG-PET/TC sobre la BMO son: es un procedimiento no invasivo y no hay posibilidad de error en las muestras, ya que con esta prueba se puede visualizar en un solo estudio la totalidad de la MO⁽²³⁾. Pacientes en un estadio inicial de la enfermedad raramente presentan afectación de la MO en ausencia de hallazgos sugestivos en

la FDG-PET/TC y los pacientes en estadio avanzado raramente muestran afectación en ausencia de síntomas relacionados con la enfermedad u otros datos que evidencien un estadio avanzado⁽¹⁹⁾.

Según varios estudios^(24,25), la FDG-PET/TC es más sensible que la BMO en la valoración de la MO. En el estudio dirigido por El-Galaly *et al.*⁽²⁴⁾, se estudiaron un total de 454 pacientes con LH; un 6% de los pacientes presentó afectación de la MO por biopsia y un 13% mostró un estudio FDG-PET/TC positivo en hueso con BMO negativa. Menos de un 1% de los pacientes con BMO positiva presentó un estudio FDG-PET/TC negativo, pacientes que ya se encontraban en un estadio avanzado de la enfermedad por la FDG-PET/TC y, por tanto, no se modificó el manejo terapéutico de los mismos en función del resultado de la biopsia. Vassilakopoulos *et al.*⁽²⁵⁾ estudiaron un total de 172 pacientes con LH, obteniendo similares resultados y concluyendo que podría omitirse la biopsia en la estadificación de todos los pacientes con LH a menos que hubiese un riesgo inicial de una posible afectación de la médula en función de la clínica y de parámetros analíticos. Por lo que el empleo de la FDG-PET/TC en el estudio inicial de los pacientes con LH se considera actualmente obligatorio, es una prueba que aporta información más precisa y obvia la necesidad de realizar la BMO.

En una revisión sistemática y un metaanálisis realizado por Adams *et al.*⁽²³⁾ compuesta por un total de 955 pacientes diagnosticados de LH y a quienes se les había realizado un estudio FDG-PET/TC, la sensibilidad y la especificidad alcanzada por la técnica en la detección de la afectación de MO fue muy elevada, aproximadamente de un 96,9 y un 99,7%, respectivamente. Además, la probabilidad de tener un estudio FDG-PET/TC negativo y BMO positiva fue muy baja (alrededor de un 1,1%). Por lo que estos resultados no solo indican que la FDG-PET/TC puede reemplazar a la BMO en el diagnóstico inicial de los LH, sino que también recomiendan el empleo de esta prueba de imagen en el estudio de extensión. Sin embargo, de acuerdo con las guías de la Sociedad Europea de Oncología Médica (ESMO) de 2011⁽²⁶⁾, actualmente no es considerada todavía obligatoria, siendo conveniente una revisión

de las mismas a la luz de los resultados observados en la literatura.

En función de estos y otros estudios, distintas guías establecen la pauta recomendada en cuanto a la indicación de la BMO en el LH. Así, en la publicación de consenso de la llamada “Clasificación de Lugano”, se afirma que no es necesaria una BMO de rutina si se ha realizado una PET/TC⁽²⁷⁾. En la guía de la National Comprehensive Cancer Network (NCCN) solo se indica la BMO si hay citopenias y la PET/TC es negativa; si la PET/TC muestra una captación homogénea de la MO o si tiene 3 o más lesiones focales se considera afecta la MO y no es preciso realizar BMO⁽²⁸⁾. Sin embargo, esto contrasta con el principal estudio realizado hasta la fecha en el que no encuentran que el patrón difuso implique infiltración de la MO por el LH⁽²⁴⁾. En nuestra experiencia, el patrón de captación difuso suele ser por mielopatía inespecífica, pero también puede ser por afectación linfomatosa⁽²⁹⁾. En la guía de la canadiense Agencia del Cáncer de British Columbia (BCCA), la BMO se indica no por afectación en la PET/TC, sino por los criterios clínicos clásicos, como es la presencia de síntomas B y/o alguna citopenia⁽³⁰⁾. En el National Cancer Institute (NCI) de los EE.UU. la indicación es menos taxativa, pero recoge también los mismos aspectos clínicos que la BCCA, junto con la positividad de la PET⁽³¹⁾. En la guía ESMO se indica solo BMO si no se ha realizado PET/TC⁽²⁶⁾, mientras que la de la Sociedad Española de Oncología Médica (SEOM) añade que, si no se ha hecho PET/TC, debe realizarse BMO en estadio III-IV y en el II si hay alguna citopenia⁽³²⁾. Con todo ello, podemos decir al menos que la BMO en el LH no es una exploración obligatoria en todos los casos. Todavía no hay consenso definitivo en cuanto a afectación (sí en el patrón difuso; y, en el focal, de cuántos focos indican la afectación). Mientras tanto, nuestra recomendación en función de las publicaciones existentes y nuestra propia experiencia es la siguiente:

- Todos los pacientes deben tener una PET/TC en la estadificación.
- La BMO puede obviarse cuando en la PET/TC exista un patrón focal (incluso unifocal), ya que se considerará la MO afecta.

- Si el patrón en la PET/TC es difuso, recomendamos realizar BMO.

- Si la PET/TC no muestra ningún tipo de captación, la BMO puede obviarse, salvo que existan citopenias inexplicadas. También puede considerarse si existen síntomas B o presencia de factores pronósticos desfavorables.

2.2. Linfomas no Hodgkin

Dentro de los LNH, el LNHDCGB es el subtipo más frecuente en la mayoría de las regiones del mundo, representando el 30-35% de todos los LNH⁽³³⁾. En este tipo de linfomas determinar una posible afectación de la MO es importante, ya que indicaría un estadio IV y podría tener implicaciones pronósticas y terapéuticas. Las guías recomiendan la realización de la BMO en todos los LNHDCGB⁽³⁴⁾.

La FDG-PET/TC en el LNHDCGB, al igual que ocurre en el LH, es una prueba más sensible que la BMO para la valoración de una posible afectación de la MO, pero se ha visto que puede fallar cuando existe una afectación difusa de la misma con bajo volumen tumoral, < 20% de afectación y cuando coexisten linfomas de bajo grado. No obstante, estos hechos raramente afectan el manejo terapéutico del paciente⁽³⁵⁻³⁸⁾. Pacientes con un estadio clínico inicial de la enfermedad raramente presentan afectación en ausencia de hallazgos sugestivos en la FDG-PET/TC^(19,39).

En una revisión sistemática y un metaanálisis realizado por Adams *et al.*⁽⁴⁰⁾, con una muestra total de 654 pacientes diagnosticados de LNHDCGB, la FDG-PET/TC mostró una buena sensibilidad (aproximadamente un 88,7%) y una casi perfecta especificidad (aproximadamente un 99,8%) en la detección de afectación de la MO. La FDG-PET/TC falló en la detección de alrededor de un 3,1% de pacientes con BMO positiva, pero pudo detectar afectación no visualizada en la biopsia hasta en un 12,5% de los casos, confirmándose el valor complementario de ambas pruebas. Con estos resultados, estos autores llegaron a la conclusión de que si un estudio FDG-PET/TC indica afectación de hueso o MO, es suficiente para establecer un estadio avanzado

de la enfermedad y no sería necesario realizar una biopsia. Si un estudio FDG-PET/TC es negativo, la BMO no se puede excluir y, por consiguiente, debería realizarse si la afectación de la misma tiene implicaciones pronósticas y/o terapéuticas, aunque los datos de los que se dispone hasta ahora, a pesar de ser limitados, indican que un estudio FDG-PET/TC negativo con BMO positiva no tiene ninguna consecuencia en la estadificación y el manejo terapéutico de los pacientes.

Un estudio FDG-PET/TC positivo puede obviar la BMO con una elevada seguridad y puede ser descartada en estos pacientes desde el punto de vista del Sistema Ann Arbor y el marcador IPI (revisado)⁽³³⁾. De manera que las guías que recomiendan la realización de la BMO en todos los pacientes con LNHDCGB, como las guías de la ESMO de 2012⁽³⁴⁾, deberían ser revisadas.

Berthet *et al.*⁽³⁶⁾ llegan a la misma conclusión que autores anteriores en cuanto a la superioridad de la FDG-PET/TC con respecto a la BMO en un estudio de 133 pacientes diagnosticados de LNHDCGB, haciendo énfasis en su importante papel en el estudio de extensión de los pacientes con este tipo de linfoma, y concluyen que la FDG-PET/TC puede reemplazar a la BMO o al menos se puede considerar una herramienta complementaria en la estadificación. Estos autores, además, añaden que el estado de la MO según la FDG-PET/TC parece ser un mejor factor pronóstico independiente que el estado de la MO según la BMO. Sus resultados sugieren que el estado de la MO por la FDG-PET/TC es un factor pronóstico independiente para la supervivencia libre de progresión, mientras que la BMO no lo es. Además, en los pacientes con BMO negativa, el estado de la MO valorado por la FDG-PET/TC tuvo un impacto adicional y significativo en la estadificación pronóstica.

Khan *et al.*⁽³⁷⁾ estudiaron 130 pacientes con diagnóstico de LNHDCGB obteniendo un elevado nivel de exactitud de la FDG-PET/TC para la detección de la afectación de la MO. Diagnosticó correctamente todos los casos positivos en la BMO e identificó depósitos focales de linfoma no detectados por la BMO. Falló en la detección de 2 casos con bajo volumen tumoral en MO, los cuales ya estaban

clasificados como estadio IV debido a la existencia de enfermedad extranodal en otra localización. Por lo que, en los casos sin evidencia de afectación de la MO por FDG-PET/TC, es improbable que la afectación de la MO por biopsia sea clínicamente significativa. Los casos con depósitos focales en MO visualizados en la FDG-PET/TC pero con BMO negativa tuvieron una supervivencia libre de progresión y una supervivencia global similares a las de un estadio IV de la enfermedad con afectación extranodal pero sin afectación de la MO. Por el contrario, los pacientes con BMO positiva tuvieron significativamente peores resultados que los pacientes con biopsia negativa. Estos pacientes se asociaron a una peor supervivencia global y a una peor supervivencia libre de eventos. Sin embargo, esto necesita ser probado en una cohorte más grande.

Por lo tanto, en lo que respecta a la información disponible del valor pronóstico de la afectación de la MO demostrado por la FDG-PET/TC, es limitada e insuficiente, y, dados los hallazgos discrepantes en la bibliografía sobre este tema, se necesitan más estudios para determinar las implicaciones pronósticas de la FDG-PET/TC en función de la afectación de la MO en pacientes con diagnóstico de LNHDCGB⁽⁴¹⁾.

Según otros estudios, la sensibilidad de la FDG-PET/TC en la detección de infiltración difusa de la MO es limitada en el LF (muestra una elevada tasa de falsos positivos)⁽⁴²⁾, en el linfoma de células del manto y en la mayoría de los linfomas indolentes, donde se necesita la BMO para el estudio de extensión de la enfermedad. De tal forma que la FDG-PET/TC debería emplearse para la estadificación en la práctica clínica y en los ensayos clínicos, pero no se recomienda de rutina en los linfomas con baja avidéz por la FDG. Sí puede ser empleada para localizar el mejor lugar para la biopsia en los pacientes con sospecha de transformación⁽²⁰⁾.

Perry *et al.*⁽⁴³⁾, en un estudio retrospectivo de 68 pacientes con LF, encontraron que la FDG-PET/TC es precisa en la detección de la afectación de la MO. Identificó correctamente a todos los pacientes con afectación de la misma y ninguno de los pacientes con FDG-PET/TC negativa tuvieron una BMO positiva, sugiriendo un excelente valor pre-

dictivo negativo. La afectación focal (multifocal o unifocal) fue indicativa de afectación de la MO. Sin embargo, la actividad difusa se asoció a una elevada tasa de falsos positivos. El papel de la FDG-PET/TC en la detección de la afectación de la MO en los pacientes con LF y si es lo suficientemente precisa para que la BMO sea innecesaria en el estudio de extensión de estos linfomas son cuestiones que se siguen estudiando.

Los datos de los que se dispone en otros tipos histológicos de linfoma, que no muestran avidez por la FDG, son insuficientes para cambiar la práctica clínica, recomendándose la BMO⁽¹⁹⁾.

En la guía del NCCN se afirma que en el LNHDCGB, ante una PET/TC negativa no es necesario realizar una BMO⁽⁴⁴⁾. En la "Clasificación de Lugano" se recomienda la BMO en caso de PET/TC negativa, salvo que se quiera identificar una histología discordante que pueda cambiar la estrategia terapéutica⁽¹⁹⁾. La guía PDQ® del NCI propone no realizar BMO si se realiza PET/TC, salvo que la afectación de la MO suponga un cambio en el tratamiento o se trate de un ensayo clínico⁽⁴⁵⁾. Por otra parte, el British Committee for Standards in Haematology en su guía de 2016 afirma que la BMO sigue siendo el estándar, si bien reconoce que la PET/TC es muy sensible salvo que la infiltración sea menor del 10-20% y/o que la afectación de MO sea discordante en forma de afectación de tipo linfoma de bajo grado⁽⁴⁶⁾.

Concluimos que cuando la PET/TC es positiva en MO, se puede prescindir de la biopsia, pero si aquella es negativa, en nuestra opinión, debe hacerse esta última exploración. Con todo, nosotros seguimos haciendo BMO en los casos positivos para PET/TC pues es una exploración, aunque algo molesta, segura, se puede hacer de forma ambulatoria y es la única forma de saber si hay una eventual discordancia entre el tipo celular del ganglio y de la MO.

3. Bibliografía

1. Kyle RA, Rajkumar SV. Criteria for diagnosis, staging, risk stratification and response assessment of multiple myeloma. *Leukemia*. 2009;23:3-9.
2. Nanni C, Zamagni E, Farsad M, Castellucci P, Tosi P, Cangini D, et al. Role of 18F-FDG PET/TC in the assessment of bone involvement in newly diagnosed multiple myeloma: preliminary results. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2006;33:525-31.
3. Zamagni E, Nanni C, Patriarca F, Englaro E, Castellucci P, Geatti O, et al. A prospective comparison of 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography-computed tomography, magnetic resonance imaging and whole-body planar radiographs in the assessment of bone disease in newly diagnosed multiple myeloma. *Haematologica*. 2007;92:50-5.
4. Zamagni E, Patriarca F, Nanni C, Zannetti B, Englaro E, Pezzi A, et al. Prognostic relevance of 18-F FDG PET/TC in newly diagnosed multiple myeloma patients treated with up-front autologous transplantation. *Blood*. 2011;118:5989-95.
5. Nanni C, Zamagni E, Celli M, Caroli P, Ambrosini V, Tacchetti P, et al. The value of 18F-FDG PET/TC after autologous stem cell transplantation (ASCT) in patients affected by multiple myeloma (MM): experience with 77 patients. *Clin Nucl Med*. 2013;38:e74-9.
6. Zamagni E, Nanni C, Tacchetti P, Pantani L, Marzocchi G, Zannetti B, et al. Positron emission tomography with computed tomography-based diagnosis of massive extramedullary progression in a patient with high-risk multiple myeloma. *Clin Lymphoma Myeloma Leuk*. 2014;14:e101-4.
7. Bartel TB, Haessler J, Brown TLY, Shaughnessy JDJ, van Rhee F, Anaissie E, et al. F18-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the context of other imaging techniques and prognostic factors in multiple myeloma. *Blood*. 2009;114:2068-76.
8. Mihailovic J, Goldsmith SJ. Multiple myeloma: 18F-FDG-PET/TC and diagnostic imaging. *Semin Nucl Med*. 2015;45:16-31.
9. Lu YY, Chen JH, Lin WY, Liang JA, Wang HY, Tsai SC, Kao CH. FDG PET or PET/TC for detecting intramedullary and extramedullary lesions in multiple Myeloma: a systematic review and meta-analysis. *Clin Nucl Med*. 2012;37:833-7.
10. Mesguich C, Fardanesh R, Tanenbaum L, Chari A, Jagannath S, Kostakoglu L. State of the art imaging of multiple myeloma: comparative review of FDG PET/TC imaging in various clinical settings. *Eur J Radiol*. 2014;83:2203-23.
11. Healy CF, Murray JG, Eustace SJ, Madewell J, O'Gorman PJ, O'Sullivan P. Multiple myeloma: a review of imaging features and radiological techniques. *Bone Marrow Res*. 2011;2011:583439.

12. Durie BG. The role of anatomic and functional staging in myeloma: description of Durie/Salmon PLUS staging system. *Eur J Cancer*. 2006;42:1539-43.
13. Van Lammeren-Venema D, Regelink JC, Riphagen I, Zweegman S, Hoekstra OS, Zijlstra JM. ¹⁸F-fluoro-deoxyglucose positron emission tomography in assessment of myeloma-related bone disease: a systematic review. *Cancer*. 2012;118:1971-81.
14. Sager S, Ergül N, Ciftci H, Cetin G, Güner SI, Cermik TF. The value of FDG PET/TC in the initial staging and bone marrow involvement of patients with multiple myeloma. *Skeletal Radiol*. 2011;40:843-7.
15. Fraioli F, Punwani S. Clinical and research applications of simultaneous positron emission tomography and MRI. *Br J Radiol*. 2014;87:20130464.
16. De Waal EG, Glaudemans AW, Schröder CP, Vellenga E, Slart RH. Nuclear medicine imaging of multiple myeloma, particularly in the relapsed setting. *Eur J Nucl Med Mol Imaging*. 2017;44:332-41.
17. Cheson BD, Horning SJ, Coiffier B, Shipp MA, Fisher RI, Connors JM, et al. Report of an International Workshop to standardize response criteria for non-Hodgkin's lymphomas. NCI Sponsored International Working Group. *J Clin Oncol*. 1999;17:1244-53.
18. Cheson BD, Pfistner B, Juweid ME, Gascoyne RD, Specht L, Horning SJ, et al.; International Harmonization Project on Lymphoma. Revised response criteria for malignant lymphoma. *J Clin Oncol*. 2007;25:579-86.
19. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Lister TA, et al. Recommendations for the initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014;32:3059-67.
20. Barrington SF, Mikhaeel GN, Kostakoglu L, Meignan M, Hutchings M, Müller SP, et al. Role of imaging in the staging and response assessment of lymphoma: consensus of the International Conference on Malignant Lymphomas Imaging Working Group. *J Clin Oncol*. 2014;32:3048-58.
21. Weiler-Sagie M, Bushelev O, Epelbaum R, Dann EJ, Haim N, Avivi I, et al. (18)F-FDG avidity in lymphoma readdressed: a study of 766 patients. *J Nucl Med*. 2010;51:25.
22. Bain BJ. Bone marrow biopsy morbidity and mortality: 2002 data. *Clin Lab Haematol*. 2004;26:315-8.
23. Adams HJ, Kwee TC, de Keizer B, Fijnheer R, de Klerk JM, Littooij AS, Nievelstein RA. Systematic review and meta-analysis on the diagnostic performance of FDG-PET/TC in detecting bone marrow involvement in newly diagnosed Hodgkin lymphoma: is bone marrow biopsy still necessary? *Ann Oncol*. 2014;25:921-7.
24. El-Galaly TC, d'Amore F, Mylam KJ, de Nully Brown P, Bøgstæd M, Bukh A, et al. Routine bone marrow biopsy has little or no therapeutic consequence for positron emission tomography/ computed tomography-staged treatment-naïve patients with Hodgkin lymphoma. *J Clin Oncol*. 2012;30:4508-14.
25. Vassilakopoulos TP, Rondogianni P, Prassopoulos V, Chatziioannou S, Moschogiannis M, Poziopoulos C, et al. Comparative assessment of bone marrow involvement (BMI) by bone marrow biopsy (BMB) or positron emission tomography/computed tomography (PET/TC) in Hodgkin lymphoma (HL). *Haematologica*. 2012;99(Suppl 1):401 (abstract 1050).
26. Eichenauer DA, Engert A, Dreyling M. Hodgkin's lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2011;22(Suppl 6):vi55-vi58.
27. Cheson BD, Fisher RI, Barrington SF, Cavalli F, Schwartz LH, Zucca E, et al. Recommendations for initial evaluation, staging, and response assessment of Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma: the Lugano classification. *J Clin Oncol*. 2014;32(27):3059-68.
28. National Comprehensive Cancer Network. Hodgkin Lymphoma (Version 3.2016). Disponible en: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/hodgkins.pdf.
29. Lakhwani S, Cabello-García D, de Bonis C, Iraheta S, Martín A, Fernández-González M, et al. Bone marrow involvement in Hodgkin lymphoma: can 18f-fdg PET/TC replace traditional biopsy? *Haematologica*. 2014;99(Suppl 1):677.
30. B. C. Cancer Agency. Cancer Management Guidelines: Hodgkin Lymphoma. Updated 12 April 2013. Disponible en: <http://www.bccancer.bc.ca/health-professionals/professional-resources/cancer-management-guidelines/lymphoma-chronic-leukemia-myeloma/hodgkin-lymphoma>.
31. PDQ® Adult Treatment Editorial Board. PDQ Adult Hodgkin Lymphoma Treatment. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Updated January 27, 2017. Disponible en: <http://www.cancer.gov/types/lymphoma/hp/adult-hodgkin-treatment-pdq>.
32. Rueda Domínguez A, Alfaro Lizaso J, de la Cruz Merino L, Gumá I, Padró J, Quero Blanco C, et al. SEOM clinical guidelines for the treatment of Hodgkin's lymphoma. *Clin Transl Oncol*. 2015;17(12):1005-13.

33. Flowers CR, Sinha R, Vose JM. Improving outcomes for patients with diffuse large B-cell lymphoma. *CA Cancer J Clin.* 2010;60:393-408.
34. Tilly H, Vitolo U, Walewski J, da Silva MG, Shpilberg O, Andre M, et al. Diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL): ESMO clinical practice guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2012;23(Suppl 7):78-82.
35. Pelosi E, Penna D, Douroukas A, Bellò M, Amati A, Arena V, et al. Bone marrow disease detection with FDG-PET/CT and bone marrow biopsy during the staging of malignant lymphoma: results from a large multicentre study. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2011;55:469-75.
36. Berthet L, Cochet A, Kanoun S, Berriolo-Riedinger A, Humbert O, Toubreau M, et al. In newly diagnosed diffuse large B-cell lymphoma, determination of bone marrow involvement with 18F-FDG PET/TC provides better diagnostic performance and prognostic stratification than does biopsy. *J Nucl Med.* 2013;54:1244-50.
37. Khan AB, Barrington SF, Mikhaeel NG, et al. PET-CT staging of DLBCL accurately identifies and provides new insight into the clinical significance of bone marrow involvement. *Blood.* 2013;122:61-7.
38. Paone G, Itti E, Haioun C, Gaulard P, Dupuis J, Lin C, Meignan M. Bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma: correlation between FDG-PET uptake and type of cellular infiltrate. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2009;36:745-50.
39. Cabello-García D, Lakhwani S, Allende-Riera A, Raya JM, Martínez-Gimeno EM, Hernández MT, et al. Diagnostic usefulness of 18F-FDG PET/TC for initial staging of non-Hodgkin's lymphomas diffuse large B-cell (NHLDLBCL). *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014;41(Suppl 2): S151-S705.
40. Adams HJ, Kwee TC, de Keizer B, Fijnheer R, de Klerk JM, Nievelstein RA. FDG PET/TC for the detection of bone marrow involvement in diffuse large B-cell lymphoma: Systematic review and meta-analysis. *Eur J Nucl Med Mol Imaging.* 2014;41:565-74.
41. Hofman MS. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography/computed tomography for evaluation of bone marrow involvement in lymphoma: when is it superior to biopsy? *Leuk Lymphoma.* 2012;53:349-51.
42. Luminari S, Biasoli I, Arcaini L, Versari A, Rusconi C, Merli F, et al. The use of FDG-PET in the initial staging of 142 patients with follicular lymphoma: a retrospective study from the FOLL05 randomized trial of the Fondazione Italiana Linfomi. *Ann Oncol.* 2013;24:2108-12.
43. Perry C, Lerman H, Joffe E, Sarid N, Amit O, Avivi I, et al. The value of PET/TC in detecting bone marrow involvement in patients with follicular lymphoma. *Medicine (Baltimore).* 2016;95:e2910.
44. National Comprehensive Cancer Network. B-cell Lymphomas (version 2.2017). Disponible en: https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/b-cell.pdf.
45. PDQ® Adult Treatment Editorial Board. Adult Non-Hodgkin Lymphoma Treatment (PDQ®)-Health Professional Version. Bethesda, MD: National Cancer Institute. Updated January 26, 2017. Disponible en: <https://www.cancer.gov/types/lymphoma/hp/adult-nhl-treatment-pdq>.
46. Chaganti S, Illidge T, Barrington S, McKay P, Linton K, Cwynarski K, et al.; British Committee for Standards in Haematology. Guidelines for the management of diffuse large B-cell lymphoma. *Br J Haematol.* 2016;174(1):43-56.

Exploraciones de imagen (II): la resonancia magnética frente a la biopsia medular como método de estudio de la médula ósea en distintas situaciones

Pilar Giraldo Castellano, Mercedes Roca Espiau

1. Introducción

En este capítulo se revisa la información que proporciona la resonancia magnética (RM) como instrumento útil para obtener un mapa global del contenido de la cavidad medular y las aplicaciones de la técnica al estudio de diferentes procesos que afectan a la médula ósea.

La práctica clínica diaria conlleva la resolución de situaciones de incertidumbre para obtener un diagnóstico lo más preciso posible e iniciar las medidas terapéuticas con rapidez. En este sentido, el intercambio de información y la colaboración entre el hematólogo clínico y el especialista en RM es fundamental para contestar preguntas relativas a la afección de forma global o focal de la médula ósea por diversas situaciones patológicas.

La RM como técnica de imagen útil para distinguir diferencias y anomalías en distintos tejidos basa su resolución en reflejar el equilibrio entre el componente graso medular y el celular hematopoyético, proporcionando una imagen de las variaciones que se producen entre estos componentes en el interior de la cavidad ósea⁽¹⁾.

2. Bases racionales de la resonancia magnética

Las bases físicas del procedimiento se deben a la propiedad que poseen algunos núcleos atómi-

cos de orientación en un campo magnético y en la emisión de una señal cuando son sometidos a una onda electromagnética de una frecuencia apropiada. El fundamento es el envío de una señal sonora sobre un objeto imantado, desarrollando fases de imantación macroscópica, lo que perturba el estado de equilibrio, debido a la señal sonora y recogida de la señal RM y la de retorno al estado de equilibrio o relajación. Esta señal de retorno al equilibrio o relajación es la señal RM⁽²⁾. Algunas nociones a tener en cuenta son las siguientes:

- El fenómeno de relajación caracteriza los tiempos T1 y T2.
- El tiempo de repetición o TR es el intervalo que separa 2 impulsos/2 sucesivas.
- El tiempo de eco o TE es el intervalo de tiempo que separa el impulso/2 de la medida de la señal emitida.
- El tiempo de relajación longitudinal o T1 representa el crecimiento del magnetismo M (componente Mz) para volver a su valor inicial. Es un crecimiento exponencial, que se realiza lentamente.
- El tiempo de relajación transversal o T2 representa la disminución del vector M (componente Mxy) para volver a su valor inicial. Tiene lugar de forma rápida y está ligado a la pérdida de coherencia de los protones.
- Las secuencias ponderadas en T1 proporcionan información sobre referencias anatómicas y las secuencias en T2 mayor aproximación a la caracterización histológica de la afectación.

Tabla 1. Factores que influyen sobre la señal

- La concentración protónica
- El tiempo de relajación en los tejidos
- La grasa tiene un T1 largo y un T2 corto
- La cortical tiene un T1 corto y un T2 corto
- Los tejidos patológicos tienden a tener tiempos de relajación más largos que el tejido sano circundante

- La secuencia STIR suma un efecto de supresión grasa y una eliminación de artefacto por desplazamiento químico. Combina un T1 corto con TR largo y muestra un contraste entre tejido sano y patológico superior al T2 convencional.

- En fase-fuera de fase: en función de su falta de contenido protónico, el hueso trabecular no presenta señal RM, pero crea heterogeneidades en el campo magnético. Esto es más evidente en secuencias en eco de gradiente, donde este artefacto puede resultar contributivo. Por lo tanto, si las trabéculas se han destruido, el artefacto es menor y la intensidad de señal será mayor (Tabla 1).

3. Aplicaciones de la resonancia magnética al estudio de la médula ósea

En general, la afectación de la médula ósea es fácil de detectar e interpretar por RM, sin que se requieran secuencias sofisticadas; es de gran utilidad para obtener un mapa de distribución de la médula hematopoyética y de la infiltración.

3.1. Distribución de la médula ósea normal

En el niño, la médula ósea ocupa el 85% del hueso y supone el 5% del peso corporal. En el adulto, la médula roja se localiza en vértebras, esternón, costillas, epífisis de huesos largos y crestas ilíacas.

El contenido de la médula ósea en los adultos es del 70% de agua y el 30% de grasa. La médula hematopoyética (roja) está constituida por el 40% de agua, el 40% de grasa y el 20% de proteínas. La médula grasa (amarilla) está constituida por el 15% de agua, el 85% de grasa y el 5% de proteínas.

El hueso normal siempre contiene ambos tipos de médula, grasa y roja; el porcentaje depende de la edad y la región anatómica (Figura 1). Sin embargo, experimenta variaciones en su composición grasa/celularidad hematopoyética como parte de un fenómeno de transformación y en dependencia de los requerimientos celulares. El tejido grasa es muy lábil y puede ser sustituido por tejido hematopoyético bajo la influencia de estímulos apropiados. Anatómicamente, la repoblación medular se produce en sentido inverso a la regresión, es decir, desde zonas proximales a distales.

La RM es capaz de reflejar la proporción entre el componente grasa y hematopoyético medular, a través de los cambios que se producen dentro de la cavidad ósea^(3,4).

La grasa medular tiene una señal análoga a la subcutánea, la intensidad de señal es alta por su gran contenido protónico, expresándose con un T1 corto y un T2 largo con alta intensidad de señal en T1 y T2. Como hemos dicho, la médula ósea normal contiene un 70% de agua y un 30% de grasa, y es

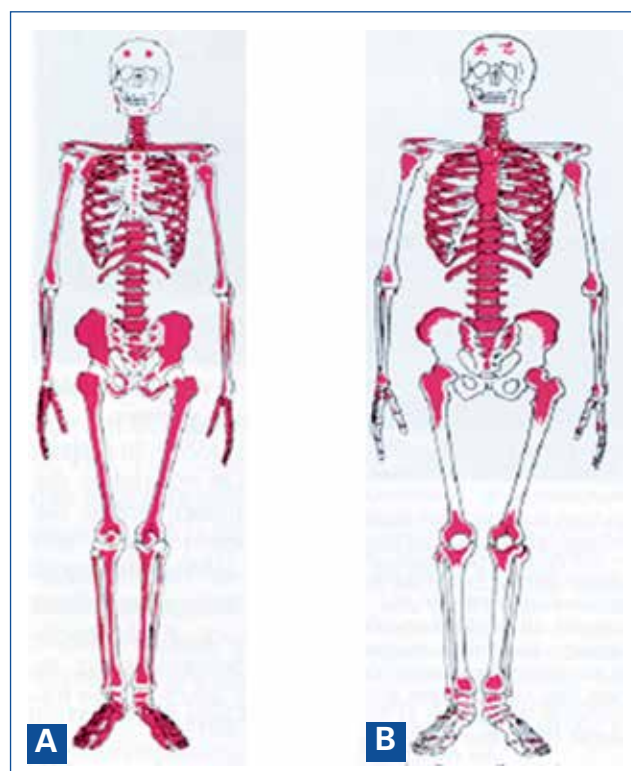


Figura 1. Distribución de la médula roja y grasa en el esqueleto del niño (A) y del adulto (B).

Tabla 2. Patrones de infiltración de la médula ósea por resonancia magnética (RM)

1. De acuerdo a Moulopoulos *et al.*:

- Focal
- Variegado (o *variegata*)
- Difuso

2. De acuerdo a Roca y Giraldo:

- Homogéneo (H)
- No homogéneo (NH):
 - Reticular (NHR)
 - Moteado (NHM)
 - Difuso (NHD)

hipointensa en T1 y en T2. T1 es la secuencia fundamental para el estudio de la médula ósea. La cortical ósea tiene escaso contenido protónico, la intensidad de señal es pequeña. La grasa tiene señal alta en T1 y T2. La médula roja tiene señal intermedia, menor que la grasa y mayor que los músculos. Las alteraciones que se pueden producir son: reconversión, infiltración, depleción, edema e isquemia⁽⁶⁾.

3.2. Patrones de infiltración de la médula ósea por resonancia magnética

La distribución de la afectación de la médula ósea puede ser difusa o focal. Se han descrito varios patrones de distribución según las imágenes que aparecen en la RM. En la **Tabla 2** se recogen los patrones descritos por Moulopoulos *et al.*⁽⁶⁾ en el estudio de la médula ósea en pacientes con afectación medular y el descrito por nuestro grupo⁽⁷⁾.

3.3. Entidades hematológicas con afectación preferente en médula ósea

3.3.1. Mieloma múltiple

El 80% de los pacientes con mieloma múltiple (MM) presenta lesiones osteolíticas o desmineralización en el momento del diagnóstico⁽⁸⁾. Cuando estas lesiones se hacen evidentes en la radiografía, más del 50% del hueso está ya ocupado. Staebler

et al.⁽⁹⁾ refieren que el 50% de los pacientes con infiltración medular difusa en RM no presenta lesiones en la radiología simple. Vande Berg *et al.* han comunicado infiltración medular en el 29% de los pacientes con MM en estadio 1⁽¹⁰⁾.

Los patrones de infiltración descritos en el MM por RM son de 3 tipos⁽¹¹⁾:

1. Lesiones focales, asociadas a lesiones líticas en radiología; son las más frecuentes (**Figura 2**).

2. Infiltración difusa; aparece en el 25% de los pacientes y se asocia con descenso de hemoglobina y alto porcentaje de plasmocitosis medular. La señal RM es hipointensa en T1 con captación difusa de gadolinio (**Figura 3**).

3. Patrón moteado o variegado, con focos hipointensos en T1 y generalmente hiperintensos en

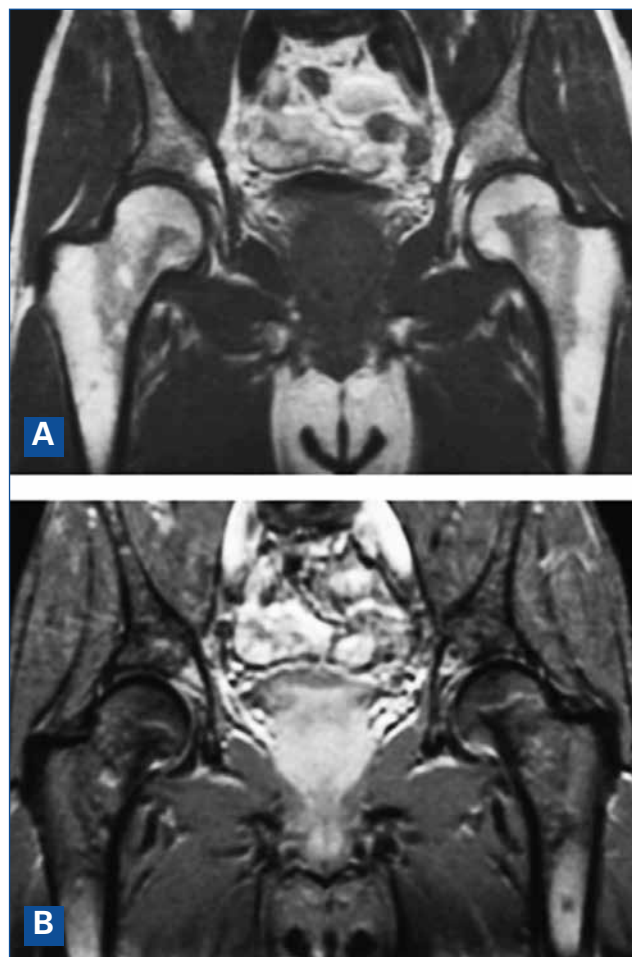


Figura 2. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) y T2 (B) coronal de pelvis. Lesión focal en ala iliaca derecha hipointensa en T1 e hiperintensa en T2.

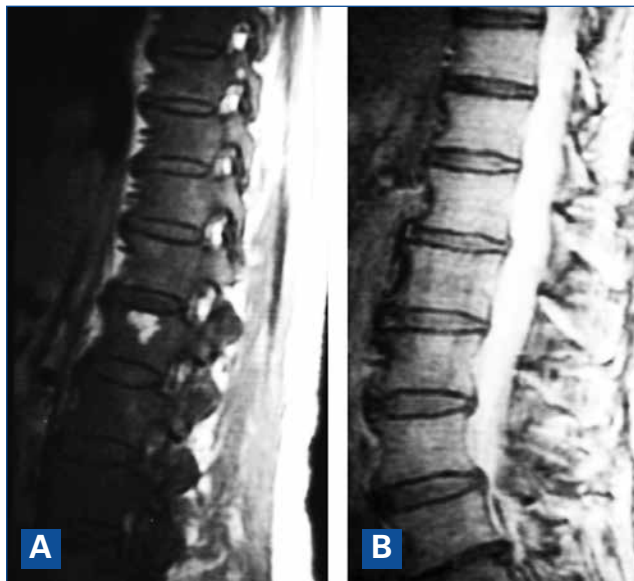


Figura 3. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) y T2 (B) sagital de vértebras. Infiltración difusa.

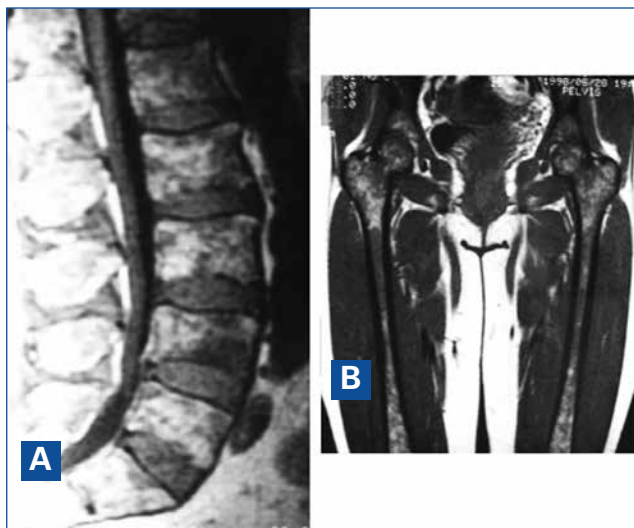


Figura 4. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) sagital de vértebras y SE T1 (B) coronal de fémures. Infiltración moteada.

T2 y STIR con captación de contraste (**Figura 4**).

Libshitz *et al.*⁽⁸⁾ describen la afectación difusa como las zonas donde se mezclan las células de mieloma con las células hematopoyéticas, produciendo un desplazamiento de la hematopoyesis provocado por acúmulos nodulares formados mayoritariamente por células plasmáticas. Por ello, la apariencia en RM es variable.

Se ha descrito una fuerte asociación entre infiltración difusa y progresión de la enfermedad. La

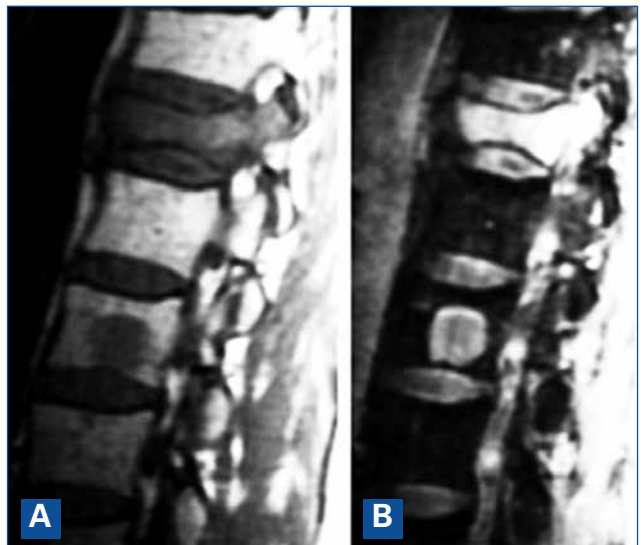


Figura 5. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) y SE T2 (B) sagital de vértebras. Lesión focal por plasmocitoma que infiltra el canal medular.

infiltración difusa es factor pronóstico desfavorable en los pacientes con radiología ósea normal⁽¹²⁾. Aproximadamente, el 15% de los pacientes está asintomático en el momento del diagnóstico, pero ya se puede detectar infiltración medular hasta en el 29-50%⁽¹⁰⁻¹²⁾. La presencia de infiltración detectable en RM está ligada al menor tiempo de progresión de la enfermedad (16 meses), en comparación con el de los pacientes que tienen RM normal (43 meses)⁽¹³⁾. Además, los pacientes con patrón de RM focal y difuso tienden a progresar más rápidamente que los pacientes con patrón moteado. Siguiendo estos criterios, las imágenes de infiltración por RM contribuyen a identificar pacientes que tienen mayor riesgo de complicaciones y a predecir la evolución de la enfermedad. Sin embargo, en los nuevos criterios diagnósticos del MM se contempla solo el patrón focal en la RM (> 1) como criterio de MM (anteriormente denominado mieloma sintomático) y, por tanto, con indicación de tratamiento⁽¹⁴⁾.

Los aplastamientos vertebrales son frecuentes en el curso de la enfermedad y también la compresión de cordón medular causada por masas asociadas a lesiones líticas vertebrales (**Figura 5**). La RM es el método de elección para valorar la repercusión sobre el canal medular, aunque resulta difícil de distinguir en muchos casos si el aplastamiento es



Figura 6. Secuencia Espín Eco (SE) T1 sagital de vértebras. Fractura vertebral con compresión del canal.

benigno o maligno (Figura 6). En los pacientes con mieloma, la osteoporosis está presente en muchos casos, aunque las alteraciones de señal acompañantes a la pérdida de altura del cuerpo vertebral se observan aproximadamente en el 50% de los casos.

Para poder valorar la respuesta al tratamiento se requieren estudios comparativos previos. Se puede observar desaparición de la alteración medular o persistencia de la lesión con o sin realce periférico de contraste. En la respuesta parcial también puede observarse conversión de patrón difuso a moteado y disminución en la extensión⁽¹⁵⁾. Los principales inconvenientes de la RM son: a) que no es un buen sistema para el seguimiento, pues las lesiones tratadas pueden tardar hasta 9-12 meses en mostrar fehacientemente la respuesta al trata-

miento⁽¹⁶⁾; y b) que la RM convencional es engorrosa para un uso rutinario. Estos inconvenientes se están mitigando, pues ya existen sistemas rápidos y la técnica de RM de cuerpo entero potenciada en difusión (WB-DWI MRI) se ha mostrado eficaz en la evaluación de la respuesta al tratamiento⁽¹⁷⁾, aunque precisa tiempo de estudio adicional.

En la variedad de MM de cadenas ligeras se ha descrito un patrón de RM diferente de aspecto moteado con focos hipointensos tanto en T1 como en T2, análogo al patrón que aparece en la enfermedad de Gaucher⁽¹⁸⁾. Por su parte, el diagnóstico de plasmocitoma solitario requiere la demostración histológica de la infiltración por células plasmáticas. Aunque esta lesión puede erradicarse por radioterapia, la mayoría de los pacientes evolucionan a MM, lo que se ha atribuido a crecimiento de enfermedad oculta⁽¹⁹⁾.

Por ello, la RM es importante en el estudio de extensión, ya que detecta lesiones insospechadas sobre todo a nivel vertebral. Actualmente, el tratamiento aceptado de estas lesiones es la radioterapia que abarque al menos 2 cm por fuera del tumor y, para ello, se recomienda realizar una RM previa de la zona del plasmocitoma.

El panel de consenso (International Myeloma Workshop 2011)⁽²⁰⁾ recomienda la realización de RM en 3 situaciones:

- Mieloma asintomático (*smoldering myeloma*) para detectar lesiones ocultas.
- En sintomático, para la visualización de lesiones focales insospechadas y plasmocitomas de partes blandas en columna y pelvis.
- En sintomático, para predecir la evolución, según el patrón de RM.

Finalmente, la RM no sustituye a la exploración directa de la médula ósea mediante aspirado de médula ósea (AMO) y/o biopsia de médula ósea (BMO), sino que ambas tienen su papel y no compiten entre sí.

3.3.2. Linfomas no Hodgkin y linfoma de Hodgkin

La infiltración de la médula ósea se produce en entre el 5 y el 15% de los pacientes en el linfoma de Hodgkin y en el 25-40% de los pacientes con

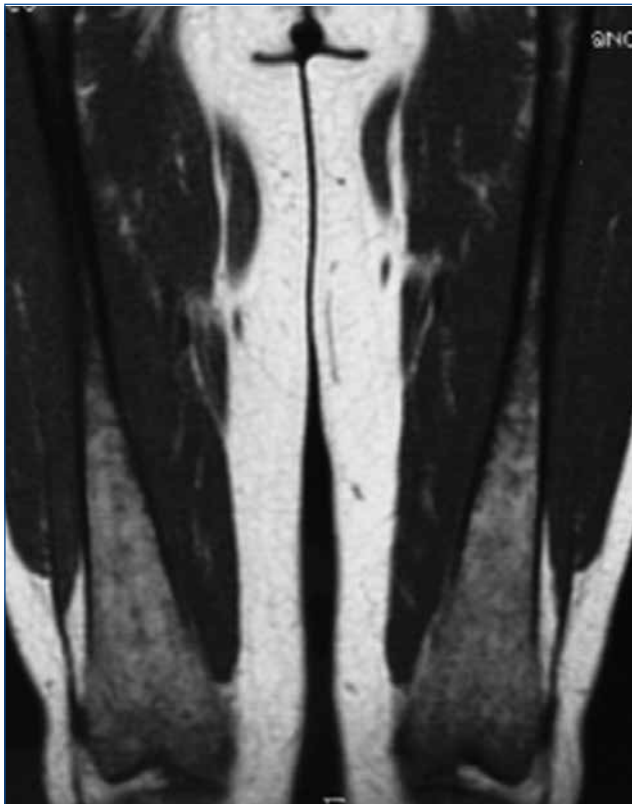


Figura 7. Secuencia Espín ECO (SE) T1 coronal de fémures. Infiltración moteada por linfoma no Hodgkin de alto grado.

diagnóstico de linfoma no Hodgkin. En T1 el patrón de afectación es de carácter difuso heterogéneo, siendo menos frecuente la infiltración focal. En T2 se observa hiperseñal, así como captación de contraste tras la inyección de gadolinio. Este aspecto es inespecífico e indistinguible del resto de la infiltración medular de otro origen y tampoco existe una diferencia en el patrón RM entre los distintos tipos histológicos de linfoma (**Figura 7**).

El diagnóstico de la infiltración de médula ósea por linfoma se realiza habitualmente por biopsia en cresta iliaca. A veces, la escasez de la muestra o la irregularidad en la distribución pueden dar lugar a una falsa negatividad⁽²¹⁾ e incluso discordancia entre muestras obtenidas en ambas crestas; la punción guiada con RM previa mejora el rendimiento de la biopsia, ya que la RM también es superior a la gammagrafía⁽²²⁾ en la detección de infiltración. Smith *et al.*⁽²³⁾ demuestran infiltración por RM en un tercio de los pacientes con linfoma con biopsia de cresta iliaca negativa. Althoefer *et al.*⁽²⁴⁾ describen única-

mente un falso positivo por RM en su serie, debido a hiperplasia hematopoyética. Al igual que con la tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/TC), puede haber casos falsos negativos cuando la infiltración es pequeña⁽²⁵⁾. La RM está indicada especialmente en pacientes con linfoma de Hodgkin, biopsia negativa y clínica de dolor óseo o incremento de fosfatasa alcalina⁽²⁶⁾. En la actualidad, las técnicas de FDG-PET y RM están acreditadas como las mejores técnicas de imagen para evaluar la respuesta al tratamiento en linfomas⁽²⁷⁾. La combinación de PET y RM en un mismo aparato (PET/RMI) se está investigando y puede ser superior a la PET/TC en la estadificación y el seguimiento de linfomas⁽²⁸⁾.

Debido a su naturaleza permeativa, puede observarse en los linfomas una extensión tumoral en forma de masa de partes blandas sin ruptura de cortical ósea. Aunque no es patognomónico, ya que puede existir en otras lesiones malignas, especialmente en los tumores de células pequeñas, su detección y valoración con RM es altamente sugestiva de linfoma.

3.3.3. Neoplasias mieloproliferativas (NMP)

3.3.3.1. Policitemia vera

En la policitemia rubra vera, la médula ósea del esqueleto axial aparece hipointensa en T1 con carácter difuso y homogéneo en los estudios de RM, siendo indistinguible de la afectación difusa observada en otras NMP. Cuando la reconversión es pronunciada, las epífisis proximales de fémur y húmero y el trocánter mayor también participan en la reconversión, mostrando hiposeñal en T1. En T2 el comportamiento puede ser variable en dependencia de la celularidad, la extensión de la fibrosis reticulínica y el efecto paramagnético del hierro si existe hem siderosis. La evaluación en fémur proximal puede cuantificarse según la afectación de la cabeza femoral y el trocánter mayor. El trocánter mayor es más resistente a la reconversión que las epífisis. Los pacientes que presentan infiltración de ambos tienen una mayor actividad en la enfermedad.



Figura 8. Patrón heterogéneo difuso en mielofibrosis primaria de grado IV. Aplastamientos vertebrales y hemangiomas.

3.3.3.2. Mielofibrosis

La médula fibrótica, propia de la mielofibrosis (MF) primaria o secundaria, se visualiza en RM como áreas de baja señal en todas las secuencias, pero su aspecto es inespecífico en el resto de las enfermedades hematológicas y no diferencia la MF primaria de la secundaria. Suele haber captación de contraste, debido al aumento de capilares, amplios sinusoides y aumento de permeabilidad vascular. Nuestro grupo ha realizado un estudio comparativo, en 8 pacientes diagnosticados de MF primaria o secundaria, entre los hallazgos histológicos y el patrón de afectación medular por RM. Los resultados demostraron que los patrones de médula ósea definidos de menor a mayor grado de afectación fueron: patrón normal de acuerdo a la edad (PN), hiperplasia hematopoyética (PHH), patrón de infiltración reticular (PR), patrón de infiltración moteada (PM), patrón de infiltración difusa heterogénea (PDH) y de infiltración difusa homogénea (PH). La correlación entre la biopsia y la

RM mostraba: a) para el grado II de MF: PH 1 paciente, PR 1 paciente y PM 1 paciente; b) grado III: PM 2 pacientes y PDH 2 pacientes; y c) grado IV: PH 1 paciente. Estos datos confirman la utilidad de la RM en la evaluación de la estructura intramedular en pacientes con MF (**Figura 8**).

3.3.3.3. Mastocitosis sistémica

La mastocitosis sistémica es también una enfermedad rara (menos del 10% de las mastocitosis), que afecta habitualmente a adultos y presenta alteraciones óseas en el 70% de los pacientes⁽²⁹⁾. Tiene especial tropismo por el esqueleto axial y, aunque puede ser silente, alrededor del 28% de los pacientes refiere dolor. Los cambios que se observan en radiología simple son pequeñas lesiones líticas o esclerosas de carácter focal o difuso. La proliferación mastocitaria en la médula ósea estimula la actividad fibroblástica con reacción granulomatosa, lo que produce destrucción trabecular con sustitución por hueso neoforado. También pueden observarse masas de partes blandas y deformidad secundaria a fracturas. La RM muestra lesiones hipointensas en todas las secuencias con distribución difusa y carácter homogéneo o moteado que afectan al esqueleto axial y pueden extenderse a fémures y húmeros proximales⁽³⁰⁾. No existe modificación de las lesiones con gadolinio intravenoso. En otros casos no se detectan lesiones en médula ósea y no existe correspondencia entre el patrón de infiltración y el porcentaje de mastocitos en la biopsia medular en la cresta iliaca, lo que favorecería la realización de biopsias guiadas a las áreas de infiltración mastocitaria observadas por RM (**Figura 9**). En cualquier caso, la infiltración presenta una señal inespecífica, aunque a veces no es detectable por otros medios diagnósticos⁽³¹⁾.

3.3.4. Aplasia e hipoplasia de médula ósea

La aplasia adquirida es de causa desconocida y puede ser secundaria a agentes químicos, medicamentos o agentes infecciosos. Algunos casos son irreversibles. La biopsia suele ser diagnóstica, de-

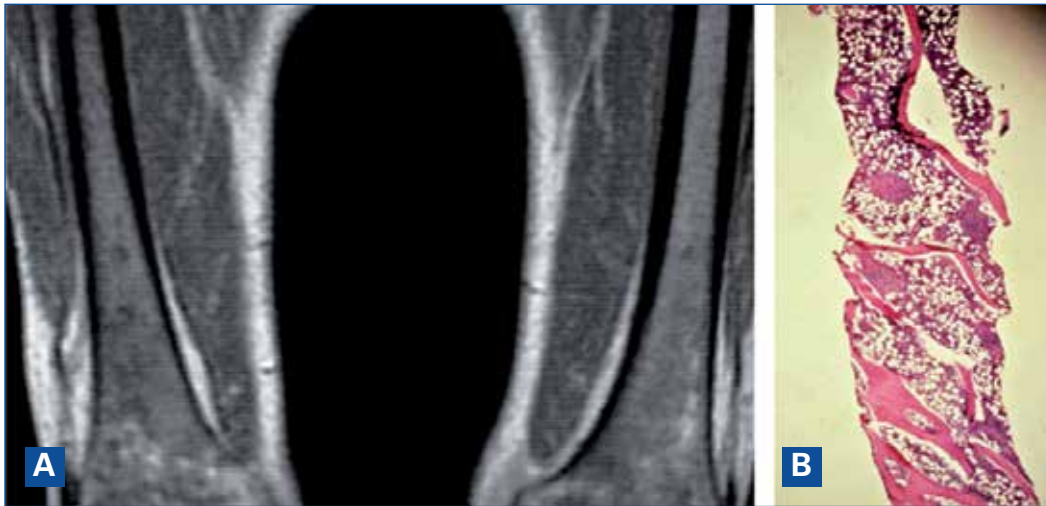


Figura 9. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) coronal de fémures. Infiltración reticular en mastocitosis sistémica. B: cilindro óseo con nódulos mastocitarios (HE \times 100).

mostrando ausencia de células o marcada hipocelularidad con predominio de médula grasa y fibrosis⁽³²⁾. Hay que tener en cuenta que pueden coexistir áreas de hematopoyesis aumentada con médula hipo- o acelular, por lo que la BMO de la cresta iliaca es una muestra que no siempre refleja el verdadero estado de la función medular. Por otra parte, una celularidad medular normal o aumentada con pancitopenia periférica puede ser signo de mielodisplasia. Los hallazgos medulares en los casos de aplasia secundaria

a quimioterapia o irradiación pueden ser difusos o focales en casos de irradiación selectiva⁽³³⁾.

La médula hipocelular o aplásica se caracteriza por un patrón difuso o moteado hiperintenso en T1, que corresponde al reemplazamiento celular por médula grasa. Este aumento de señal es más apreciable en las zonas que normalmente contienen restos de médula roja, como el fémur proximal o las vértebras (Figura 10). En el esqueleto apendicular es más difícil de apreciar esta variación.



Figura 10. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) coronal de pelvis y SE T1 (B) sagital de vértebras. Aumento de la señal por reemplazamiento de la médula roja por médula grasa en aplasia medular.



Figura 11. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) sagital de vértebras. Aplasia medular con focos hipointensos de regeneración hematopoyética en cuerpos vertebrales tras el tratamiento. B: cilindro óseo con médula grasa (HE \times 30).

Cuando se produce respuesta al tratamiento, se observa en los cuerpos vertebrales un patrón heterogéneo formado por focos hipointensos en T1 y T2 que representan focos de hematopoyesis. La RM constituye un buen método de valoración de respuesta al tratamiento^(34,35), teniendo en cuenta que en ocasiones estos focos aparecen en vértebras y no se ven en la pelvis, donde normalmente se realiza la biopsia. Si el paciente se recupera totalmente de su aplasia, la médula vuelve a tener el aspecto y la distribución normales para su edad.

La aplasia inducida por quimioterapia puede no originar cambios medulares en RM o bien producir la misma apariencia que la aplasia idiopática. La administración de factores de estimulación de la eritropoyesis como coadyuvante al tratamiento quimioterápico produce un patrón parcheado en RM que muestra focos hipointensos en T1, que en T2 presentan idéntica señal o ligeramente aumentada, similares a los focos hematopoyéticos en su comportamiento pero localizados en áreas donde normalmente existe médula grasa (Figura 11).

La depleción de la celularidad medular ocurre también durante la irradiación ionizante a dosis terapéuticas. La extensión de la afectación medular y su capacidad de regeneración es dosis dependiente, pero los cambios en la señal de RM dependen también del tiempo transcurrido. En la irradiación sobre vértebras, normalmente no se observan cambios en la señal 2 semanas después del tratamiento. Entre la tercera y la sexta semana desaparecen la mayoría de los elementos de médula roja y existe infiltración grasa central en el cuerpo vertebral, o incluso puede verse un patrón de apariencia heterogénea, resultado de la eliminación parcial de elementos celulares de médula roja. Después de 6 semanas, todos los pacientes mostrarán hiperseñal en T1. Durante el primer año de irradiación con dosis bajas (menos de 30 Gy) existe regeneración medular, pero por encima de 50 Gy no hay recuperación, mostrando la RM los límites entre la zona de infiltración grasa y la zona de médula normal. En caso de irradiación a dosis bajas, la regeneración medular en la RM podría

confundirse con infiltración celular de otro tipo. Dosis de irradiación superiores a 50 Gy se asocian a sustitución completa por médula grasa, debido a la extinción medular irreversible⁽³⁴⁾.

3.3.5. Trasplante de progenitores hematopoyéticos

Conocer el aspecto normal en la RM de la repoblación de la médula ósea después de un trasplante (TMO) es fundamental para poder distinguir la repoblación medular normal de la infiltración tumoral. El examen de la RM pretrasplante puede mostrar un aspecto normal de la médula ósea en columna vertebral y pelvis o una señal anormal correspondiente a infiltración, ya que el examen se realiza previo al tratamiento mieloablativo. En caso de obtener una RM en esta fase previa, se observa una tendencia a la disminución de señal en T1 y aumento en STIR, modificación que puede estar relacionada con la necrosis celular y el edema de médula ósea inducido por la radiación y/o la quimioterapia.

Hasta el tercer mes tras el alo-TMO no se observan modificaciones en la RM en relación con el examen pretrasplante. A partir del sexto mes, los cambios son debidos a la colonización medular después de la aplasia inducida, observando la aparición de una señal heterogénea alternando zonas de hipo- e hiperintensidad en T1, o bien un aspecto en bandas. Este aspecto característico observado en los cuerpos vertebrales corresponde a hipointensidad de tipo celular en las zonas periféricas bajo los platillos vertebrales y una zona central de señal hiperintensa de tipo graso. Histológicamente, las zonas periféricas corresponden a zonas hipercelulares de repoblación hematopoyética, mientras que la zona central es poco celular y rica en grasa. La distribución depende del sistema de vascularización del cuerpo vertebral.

La RM puede usarse, además de para valorar la celularidad en pacientes con TMO, en el estudio de alteraciones metabólicas derivadas del tratamiento citotóxico o de los procesos inmunológicos, utilizando QSCI (*chemical-shift selective imaging techniques*)⁽²⁹⁾.

3.3.6. Necrosis de médula ósea

La necrosis de médula ósea (NMO) es un hallazgo histológico infrecuente, identificado generalmente en la autopsia. Consiste en una lesión degenerativa medular que aparece en procesos agudos que provocan una ocupación masiva de la médula ósea o debido a isquemia generalizada⁽³⁵⁾.

Histológicamente, se caracteriza por la presencia de un material eosinófilo amorfo que sustituye a la médula ósea, en el que pueden identificarse algunas células de núcleo basófilo. Clínicamente, cursa con dolor óseo, anemia, cuadro leucoeritoblástico y elevación de LDH.

La NMO aparece asociada a tumores que infiltran masivamente la médula ósea o provocan isquemia, como metástasis, leucemia aguda, linfoma, plasmocitoma, anemia de células falciformes, irradiación a dosis masivas o citotóxicos, sepsis y coagulación intravascular diseminada. La presencia de NMO asociada a procesos neoplásicos es considerada como un signo de mal pronóstico⁽³⁶⁾. La incidencia real de esta entidad se desconoce. En estudios realizados en autopsias, aparece en el 3-15% de los pacientes con neoplasia; su diagnóstico en vida desciende al 0,15-7%, debido en ocasiones a la falta de conocimiento de esta alteración o bien porque es atribuida a fallos de técnica.

La radiología simple y la TC ósea son generalmente normales o muestran desmineralización o patrón permeativo trabecular inespecífico. La RM permite visualizar cualquier tipo de infiltración medular ósea debido a la sustitución de la señal grasa fisiológica. En este caso, la médula muestra un aspecto heterogéneo que traduce el desequilibrio en la distribución de la señal atribuible a la transformación de las células en material amorfo en el que se mezclan detritus celulares y estroma⁽³⁷⁾ (**Figura 12**).

3.3.7. Enfermedades de acúmulo. Enfermedad de Gaucher

En las enfermedades de acúmulo, la RM detecta los cambios producidos en la médula ósea debidos a la combinación de fenómenos de infiltración

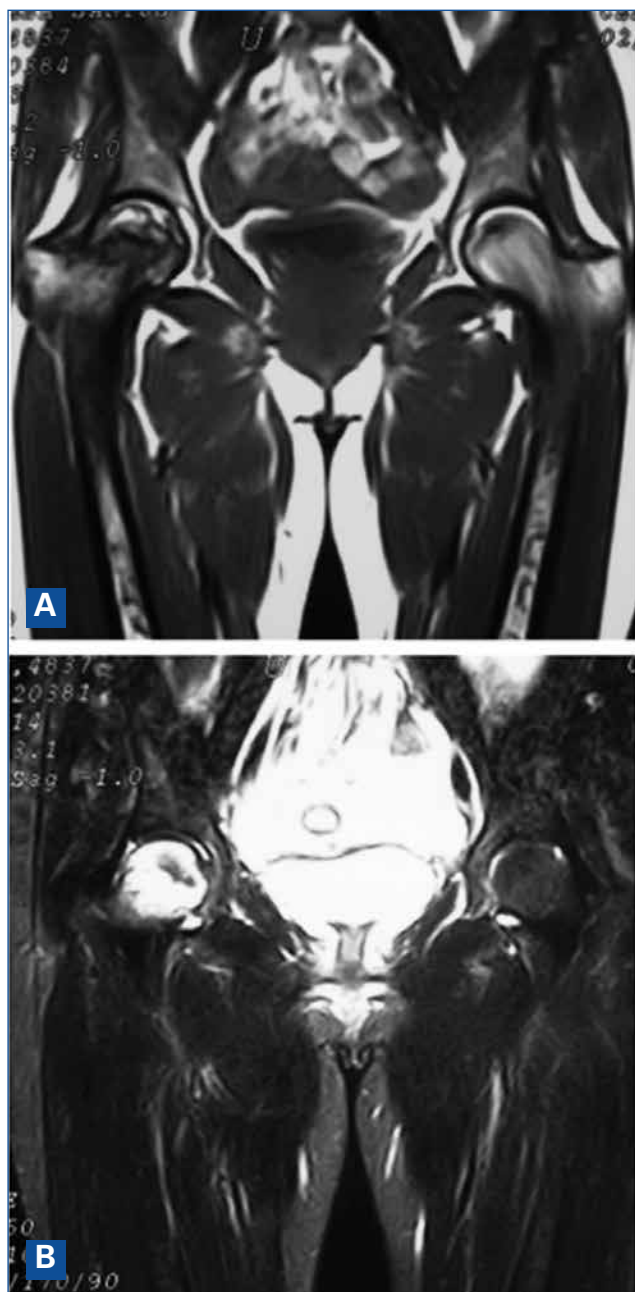


Figura 12. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) y SE T2 (B) coronal de pelvis. Afectación medular generalizada de aspecto heterogéneo y señal mixta. Necrosis de cabeza femoral derecha.

celular, edema e isquemia. Pastores *et al.*⁽³⁸⁾ citan 2 fenómenos determinantes de las alteraciones en RM en la enfermedad de Gaucher: la infiltración medular progresiva por las células de Gaucher y el compromiso vascular debido a fenómenos oclusivos secundarios a la colonización celular (**Figuras 13A y 13B**). La infiltración celular provoca áreas

hipointensas en T1 y T2, comenzando en estadios precoces en las vértebras (**Figuras 13C y 13D**) y progresando desde el esqueleto axial al apendicular, afectando a pelvis, caderas y extremidades inferiores⁽³⁹⁾, con predominio proximal. El patrón típico muestra disminución de señal homogénea en T1 y T2 en cuerpos vertebrales y no homogénea en segmentos proximales de extremidades inferiores, con epífisis preservadas en la mayoría de los casos.

Por otra parte, la presión celular sobre el endostio diafisario causa afinamiento cortical en huesos largos y deformidad característica en matraz de Erlenmeyer indicativa de enfermedad activa en las fases de crecimiento.

El compromiso vascular provoca infartos, necrosis avascular y pseudosteomielitis o crisis óseas. La necrosis avascular se debe a infartos crónicos producidos por oclusión arteriolar tras la progresiva infiltración celular de la médula y episodios de vasoespasmo y trombosis. En fase inicial, la médula es isointensa y la transición entre tejido normal y necrótico es una banda de baja señal en todas las secuencias. Posteriormente, disminuye la señal del hueso necrótico, apareciendo fracturas por colapso cortical.

Los infartos óseos se visualizan como focos de baja señal en todas las secuencias, de localización intramedular diafisaria y a veces bilaterales (**Figura 14**). Las crisis óseas que aparecen en el 30-40% de los pacientes con enfermedad de Gaucher están provocadas por obstrucción vascular intraósea aguda. Debido al edema, la médula aparece hipointensa en T1 e hiperintensa en T2. A veces se observa hiperintensidad subperióstica en T1 debido a hematoma o hemorragia en fase subaguda. Los estudios de control muestran recuperación de la señal fisiológica tras el episodio de crisis ósea.

En las vértebras, la enfermedad de Gaucher provoca alteraciones debidas al aumento de presión intramedular por acumulación celular, en forma de reabsorción endóstica cortical y fenómenos oclusivos vasculares. Las vértebras planas se deben a necrosis y fracturas por compresión con ensanchamiento del espacio discal.

Tanto el tratamiento enzimático sustitutivo como el tratamiento por reducción de sustrato provocan

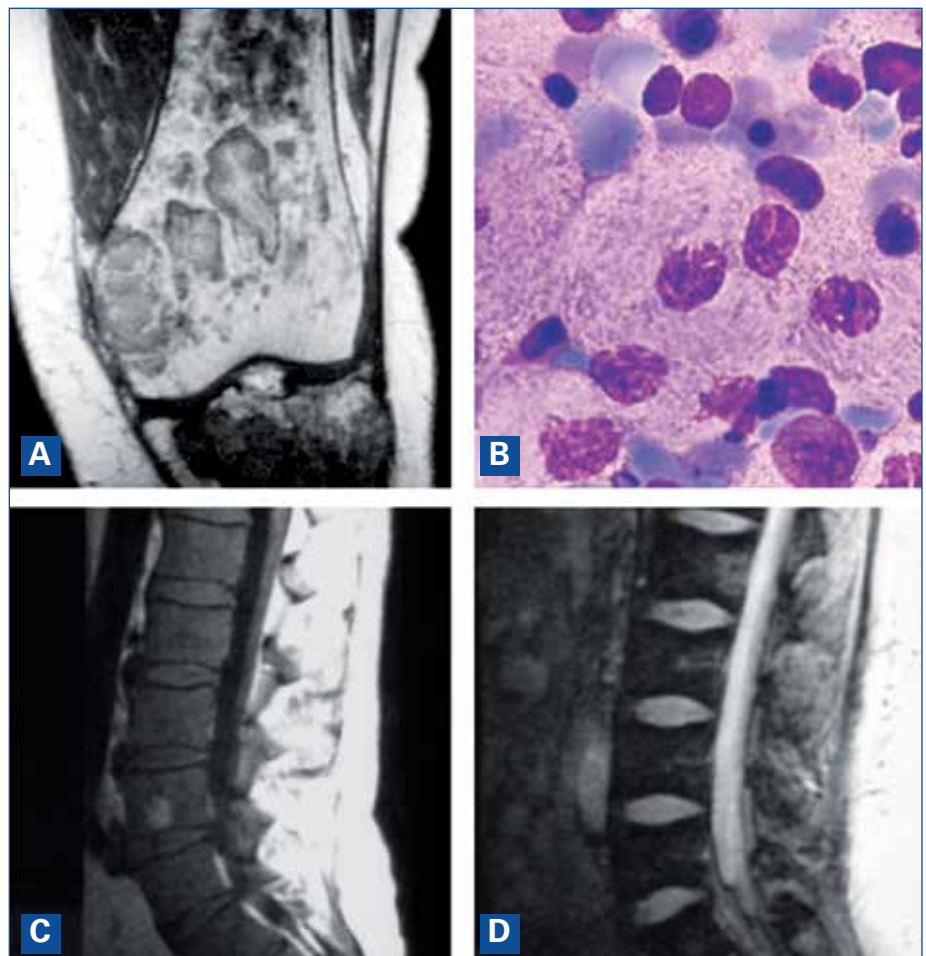


Figura 13. Secuencia Espín Eco (SE) T1 (A) coronal de fémur con lesiones infiltrativas y focos de necrosis en enfermedad de Gaucher. B: células de Gaucher (HE \times 100). SE T1 (C) y SE T2 (D) sagital de vértebras. Disminución de intensidad de la señal en T1 y en T2.

una disminución del almacenamiento lipídico intramedular, ya visible en algunos pacientes a partir de los 6 meses, observando un aclaramiento y una recuperación de la señal fisiológica en la RM, así como desaparición del edema en las crisis óseas⁽⁴⁰⁾. Además, en el examen de la médula ósea por RM se detectan otras alteraciones en principio no relacionadas con la enfermedad de Gaucher y que destacan por su frecuencia en estos pacientes, como hemangiomas vertebrales, discopatías, etc.⁽⁴¹⁾.

3.4. Evaluación postratamiento en hemopatías malignas

Para el clínico, disponer de una herramienta de exploración que permita una valoración global del órgano medular por contraposición a exámenes histopatológicos, siempre limitados por el volumen objeto

de examen, supone un notable avance y una inestimable ayuda para la adopción de criterios terapéuticos orientados, al igual que para evaluar su eficacia.

Las aplicaciones iniciales de la RM en hematología se orientaban a definir la presencia de lesiones no detectables por otros procedimientos de imagen, siendo el máximo exponente la valoración de afectación intraósea en el MM. Con la incorporación del TMO, la RM adquirió una nueva dimensión para el clínico, como instrumento que permitía definir el estado de la médula ósea en pacientes tributarios de este procedimiento y de forma muy particular en el caso de la aplasia medular.

La RM, debido a su sensibilidad en la detección de la infiltración celular, resulta útil en la fase inicial como balance de extensión de la enfermedad. Este estudio de extensión cuantitativo será también importante, junto con el resto de las pruebas, a la hora de plantear la terapéutica. En la evaluación de

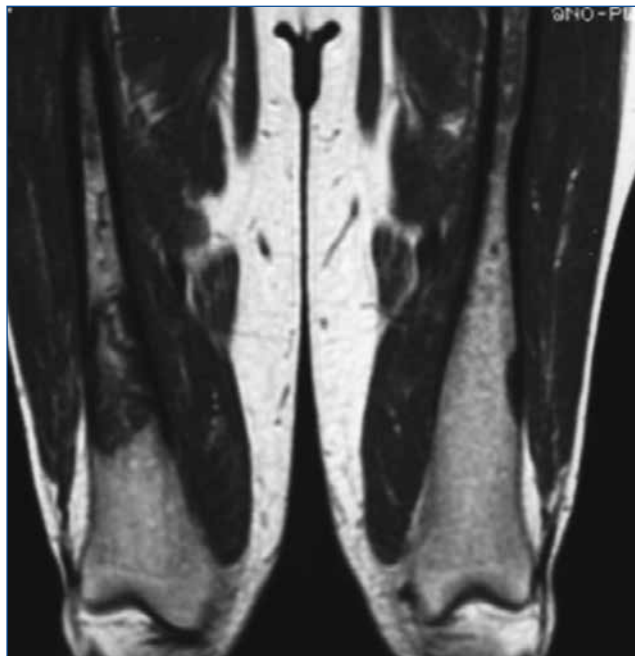


Figura 14. Secuencia Espín Eco (SE) T1 coronal de fémures. Infarto extenso en fémur derecho en paciente con enfermedad de Gaucher de tipo 1 no tratado.

la respuesta terapéutica, la RM puede mostrar el grado de afectación medular, resultando complementaria a los métodos que valoran la progresión de la mineralización ósea.

En el **MM y en las metástasis**, las fracturas y aplastamientos vertebrales son frecuentes, necesitando en los estudios de RM secuencias que ayuden a diferenciar si se trata de lesión benigna o maligna. Por otra parte, los criterios basados en pérdida total o preservación de la señal grasa en T1, así como la distribución y la configuración de la afectación medular en caso de pérdida parcial, permiten una diferenciación en un 94% de los casos.

Los aplastamientos vertebrales deben valorarse con cuidado en pacientes osteoporóticos. En fracturas antiguas, la médula ósea presenta una señal grasa normal, pero en caso de fractura reciente existe hiposeñal en T1, al igual que en las metástasis. En general, la afectación múltiple con extensión al arco posterior y convexidad del muro posterior y contorno bien definido de la zona infiltrada respecto de la médula sana es sugestiva de metástasis. Cuando la diferenciación entre médula sana y afecta es menor y se observa además fragmentación de cuerpo ver-

tebral y discal, el diagnóstico de aplastamiento osteoporótico es más probable. En los estudios dinámicos, ambos tipos de lesión captan contraste, pero el aclaramiento es más rápido en las metástasis.

También durante la fase de tratamiento o en controles posteriores se observa que la curación de la masa tumoral que reemplazaba la médula del cuerpo vertebral conlleva un aplastamiento. En casos dudosos, un nuevo control después de 4 semanas disminuye el componente edematoso de un aplastamiento benigno, disminuyendo la afectación, mientras que en casos de lesión maligna los cambios persisten o aumentan.

Tras radioterapia, la detección de nuevas lesiones es fácil en T1 debido al aumento de señal post-tratamiento. La depleción de la celularidad medular ocurre también durante la irradiación ionizante a niveles terapéuticos. Niveles de irradiación por encima de 50 Gy se asocian con completa sustitución por médula grasa, 9 años después del tratamiento, debido a extinción medular irreversible. La extensión de la afectación medular y su capacidad de regeneración es dosis dependiente, pero los cambios en la señal RM dependen también del tiempo transcurrido. En la irradiación sobre vértebras, normalmente no se observan cambios en la señal 2 semanas después del tratamiento. En entre 3 y 6 semanas, desaparecen la mayoría de los elementos de médula roja y existe infiltración grasa central en el cuerpo vertebral, o incluso puede verse un patrón de apariencia heterogénea, resultado de la eliminación parcial de elementos celulares de médula roja. Después de 6 semanas, todos los pacientes mostrarán hiperseñal en T1.

Durante el primer año de irradiación con dosis bajas (menos de 30 Gy) existe regeneración medular, pero por encima de 50 Gy no hay recuperación, mostrando la RM los límites entre la zona de infiltración grasa y la zona de médula normal. En caso de irradiación a dosis bajas, la regeneración medular en RM no debe confundirse con infiltración celular de otro tipo.

Tras cirugía e implantes no ferromagnéticos, la RM permite, no obstante, obtener imágenes mediales libres de artefactos que van a permitir el seguimiento evolutivo.

La infiltración medular puede provocar fracturas patológicas en cualquier localización es-

Tabla 3. Indicaciones de la resonancia magnética (RM) de médula ósea y grado de utilidad en relación con la enfermedad a estudiar y comparada con el rendimiento de la biopsia de médula ósea (BMO)

Enfermedad	Patrón de infiltración	Utilidad diagnóstica	Evaluación de la respuesta al tratamiento
Mieloma/Plasmocitoma	Difuso o focal	+++ Identificar masas Distribución global Diferenciar MM de GMSI	+++
Aplasia	Difuso o moteado hiperintenso en T1	++++ Evaluación de focos hematopoyéticos residuales	++++ Patrón de repoblación medular, sobre todo en CV
Linfoma	Difusa o focal	Identificar masas abordables para biopsia	+++
Neoplasias mieloproliferativas	Difuso o focal en mastocitosis	+ Biopsia dirigida en focos sugestivos de acúmulo de mastocitos	+
Trasplante de médula ósea	Normal, focal	++ Identificar infiltración medular pretrasplante	+++ Patrón de repoblación medular normal o tumoral
Enfermedad de Gaucher	Homogéneo o heterogéneo según localización	++++ Imprescindible para conocer grado de afectación medular	++++ Imprescindible para conocer grado de respuesta en la médula ósea
Osteonecrosis	Hipointensidad en T1 e hiperintensidad en T2 por edema	++++	++++

CV: columna vertebral; GMSI: gammapatía monoclonal de significado incierto; MM: mieloma múltiple

quelética susceptibles de sustitución protésica, donde la RM permitirá valorar el límite de la infiltración medular para realizar el anclaje correspondiente.

La administración de **factores estimulantes de la hematopoyesis** durante el tratamiento quimioterápico produce un patrón parcheado en RM que muestra focos hipointensos en T1, que en T2 presentan idéntica señal o ligeramente aumentada, similares a los focos hematopoyéticos en su comportamiento pero localizados en áreas donde normalmente existe médula grasa.

4. Consideraciones prácticas

La RM es una técnica útil e incruenta para estudiar el contenido de la médula ósea. Es una exploración

inocua; no existe riesgo de irradiación y, por tanto, se puede repetir tantas veces como sea necesario. Únicamente se han de tomar precauciones en los sujetos que llevan prótesis metálicas, marcapasos o implantes. La RM puede detectar una amplia gama de alteraciones de señal en la médula ósea, de carácter difuso o focal. La [Tabla 3](#) recoge las principales indicaciones de la RM y la comparación de su rendimiento con respecto a la BMO.

5. Bibliografía

1. Giraldo P, Roca M, Rubio-Félix D. Resonancia magnética en enfermedades hematológicas. Madrid: Grupo Aula Médica; 2001.
2. Roca M. Resonancia magnética del sistema músculo-esquelético. Barcelona: Doyma; 1992. pp. 1-23.

3. Vande Berg BC, Malghem J, Lecouvet FE, Maldague B. Magnetic Resonance Imaging of normal bone marrow. *Eur Radiol.* 1998;8:1327-34.
4. Lang P, Friz R, Majumdar S, Vahlensieck M, Peterfy C, Genant HK. Hematopoietic bone marrow in the adult knee: spin-echo and opposed-phase gradient-echo MR imaging. *Skeletal Radiol.* 1993;22:95-103.
5. Vogler JB, Murphy WA. Bone Marrow Imaging. *Radiology.* 1988;168:679-93.
6. Mouloupoulos LA, Dimopoulos MA. Magnetic resonance imaging of the bone marrow in hematologic malignancies. *Blood.* 1997;90(6):2127-47.
7. Roca M, Giraldo P. Magnetic resonance in the diagnosis of extent and osseous complications of Gaucher's disease type 1. *Radiology.* 1997;205(Suppl):632.
8. Libshitz HJ, Malthouse SR, Cunningham D, McVicar AD, Husband JE. Multiple Myeloma: Appearance at MR Imaging. *Radiology.* 1992;182:833-7.
9. Staebler A, Baur A, Bartl R, Munker R, Lamerz R, Reiser MF. Role of MR imaging in patients with multiple myeloma: contrast-enhanced study with clinical and histologic correlation. *Radiology.* 1995;197:158.
10. Vande Berg B, Lecouvet F, Michaux L, Labaisse M, Malghem J, Jamart J, et al. Stage Y multiple myeloma: value of MR imaging of the bone marrow in the determination of prognosis. *Radiology.* 1996;201:243.
11. Mouloupoulos LA, Varma DGK, Dimopoulos MA, Leeds EN, Kim EE, Johnston DA, et al. Multiple myeloma: spinal MR imaging in patients with untreated newly diagnosed disease. *Radiology.* 1992;185:833-40.
12. Smith DB, Scarffe JH, Eddleston B. The prognostic significance of x-ray changes at presentation and reassessment in patients with multiple myeloma. *Hematol Oncol.* 1998;6:1-6.
13. Dimopoulos MA, Mouloupoulos LA, Smith T, Delasalle KB, Alexanian R. Risk for disease progression in asymptomatic multiple myeloma. *Am J Med.* 1993;94:57.
14. Rajkumar SV, Dimopoulos MA, Palumbo A, Blade J, Merlini G, Mateos MV, et al. International Myeloma Working Group updated criteria for the diagnosis of multiple myeloma. *Lancet Oncol.* 2014;15:e538-48.
15. Mouloupoulos LA, Dimopoulos MA, Alexanian MD, Leeds EN, Libshitz HI. Multiple Myeloma: MR patterns of Response to Treatment. *Radiology.* 1994;193:441-6.
16. Walker R, Barlogie B, Jacobson J, Shaughnessy J, Epstein J, Angtuaco E, et al. Prospective Evaluation of 460 Patients from Total Therapy II – Identification of Characteristics on Baseline MRI Examinations of Prognostic Significance – Importance of Focal Lesions (FL) in Multiple Myeloma (MM). *Hematol J.* 2003;4:S171.
17. Giles SL, Messiou C, Collins DJ, Morgan VA, Simpkin CJ, West S, et al. Whole-body diffusion-weighted MR imaging for assessment of treatment response in myeloma. *Radiology.* 2014;271:785-94.
18. Baur A, Stabler A, Lamerz R, Bartl R, Reiser M. Light chain deposition disease in multiple myeloma: MR imaging features correlated with histopathological findings. *Skeletal Radiol.* 1988;27:173-6.
19. Holland J, Trenkner DA, Wasserman TH. Plasmacytoma: treatment results and conversion to myeloma. *Cancer.* 1992;69:1513.
20. Dimopoulos M, Kyle R, Fermand JP, Rajkumar SV, San Miguel J, Chanan-Khan A, et al. International Myeloma Workshop Consensus Panel 3 - Consensus recommendations for standard investigative workup: report of the International Myeloma Workshop Consensus Panel 3. *Blood.* 2011;117:4701-5.
21. Sanz L, Cervantes F, Mercader JM, Rozman M, Rozman C, Montserrat E. Afección oculta de la médula ósea en la enfermedad de Hodgkin: detección por resonancia magnética. *Med Clin.* 1996;107:143-5.
22. Linden A, Zankovich R, Theissen P, Diehl V, Schicha H. Malignant lymphoma: bone marrow imaging versus biopsy. *Radiology.* 1989;173:335-9.
23. Smith R, Schilder K, Shaer A, Negendak W. Lymphoma staging with bone marrow MRI. *Proc Am Soc Clin Oncol.* 1995;14:390.
24. Althoefer C, Blum U, Bathmann, Wustenberg C, Uhrmeister P, Laubenberger J, et al. Comparative diagnostic accuracy of Magnetic Resonance Imaging and Immunosintigraphy for detection of bone marrow involvement in patients with malignant Lymphoma. *J Clin Oncol.* 1997;15:1754-60.
25. Albano D, Patti C, Lagalla R, Midiri M, Galia M. Whole-body MRI, FDG-PET/CT, and bone marrow biopsy, for the assessment of bone marrow involvement in patients with newly diagnosed lymphoma. *J Magn Reson Imaging.* 2017;45:1082-9.
26. Tardivon AA, Vanel D, Munk JN, Bosq J. Magnetic resonance imaging of the bone marrow in lymphomas and leukemias. *Leuk Lymphoma.* 1997;25:55-68.
27. Rahmouni A, Luciani A, Itti E. MRI and PET in monitoring response in lymphoma. *Cancer Imaging.* 2005;23:5.

28. Afaq A, Fraioli F, Sidhu H, Wan S, Punwani S, Chen SH, et al. Comparison of PET/MRI With PET/CT in the Evaluation of Disease Status in Lymphoma. *Clin Nucl Med*. 2017;42(1):e1-e7.
29. Resnick D, Haghighi P. Myeloproliferative disorders. En: Resnick D (ed.). *Diagnosis of bone and joint disorders*. 2.nd ed. Vol. 4. Philadelphia: Saunders; 1996.
30. Avila NA, Ling A, Metcalfe DD, Worobec AS. Mastocytosis: magnetic resonance imaging patterns of marrow disease. *Skeletal Radiol*. 1998;27:119-26.
31. Roca M, Mota J, Giraldo P, García Erce JA. Systemic mastocytosis: MRI of bone marrow involvement. *Eur Radiol*. 1999;9:1094-7.
32. Hernández-Nieto L, Rozman C. *Biopsia medular en la clínica hematológica*. Barcelona: Salvat; 1980.
33. Kaplan PA, Asleson RJ, Klassnen LW, Dugan MJ. Bone marrow patterns in aplastic anemia: observations with 1.5 T MR imaging. *Radiology*. 1987;164:441-4.
34. Casamassina F, Ruggiero C, Caramella D. Hematopoietic bone marrow recovery after radiation therapy: MRI evaluation. *Blood*. 1989;73:1667-70.
35. Weis J, Ericsson A, Hemmingsson A. Chemical shift artifact-free imaging: a new option in MRI? *Magn Reson Imaging*. 1998;16:839-44.
36. Feliu J, González Peramato P, Vicente J, García Girón M, González Barón M, Montero JM. Necrosis de médula ósea y cáncer. *Rev Clin Esp*. 1989;185:405-8.
37. Takasaki S, Otsuka T, Gondo H, Kamura K, Nomoto M, Kaida M, et al. Magnetic Resonance Imaging (MRI) of bone marrow necrosis. *Rinsho Ketsueki*. 1994;35:1349-54.
38. Pastores GM. Gaucher Disease Type 1: Clinical Assessment of Body Disease. *Gaucher Clinical Perspectives*. 1994;2:5-7.
39. Maas M, Van Kuijk C, Stoker J, Hollak CE, Akkerman EM, Aerts JF, et al. Quantification of bone involvement in Gaucher disease: MR imaging bone marrow burden score as an alternative to Dixon quantitative chemical shift MR imaging-initial experience. *Radiology*. 2003;229:554-61.
40. Wenstrup RJ, Roca M, Weinreb NJ, Bembi B. Skeletal aspects of Gaucher disease a review. *Br J Radiol*. 2002;Suppl 1:A2-A12.
41. Andrade M, Valero E, Roca M, Giraldo P. The utility of magnetic resonance imaging for bone involvement in Gaucher disease. Assessing more than bone crises. *Blood Cells Mol Dis*. 2016. [Epub ahead of print].

La biopsia de médula ósea en situaciones diversas: cáncer metastásico, patología del sistema mononuclear fagocítico, mastocitosis sistémica, infección por virus de la inmunodeficiencia humana y mielopatía inespecífica tumoral

Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, José Luis Carrasco Juan, José María Raya Sánchez, Miguel T. Hernández García, Luis Hernández Nieto

1. Introducción

En este capítulo se contemplan de forma sucinta y esquemática distintas patologías de la médula ósea (MO). En primer lugar y constituyendo su motivo central, se considera el estudio de la MO con cáncer secundario o metastásico y, posteriormente, se aborda la patología de MO en otros procesos tales como la mielopatía inespecífica tumoral, los trastornos del sistema mononuclear fagocítico, la infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y la mastocitosis sistémica (MS) (Tabla 1).

2. Biopsia medular ósea en el cáncer metastásico

Convencionalmente, el término de tumor metastásico de MO se aplica a la invasión secundaria de la misma por una tumoración extramedular no hematopoyética⁽¹⁾; por tanto, eludiremos en este apartado a las neoplasias hematolinfoides secundarias de la MO, cuyas características microscópicas son similares a las primarias (previamente comentadas), así como las no hematolinfoides primarias de la misma, aunque las tendremos presentes en el diagnóstico diferencial.

La MO es una estructura orgánica propensa a la implantación de metástasis de neoplasias malignas y, en el estudio de extensión del tumor, su presen-

Tabla 1. Biopsia medular en el cáncer (secundario) y procesos diversos

I. Tumores metastásicos de médula ósea
A. Epiteliales (carcinomas)
B. Mesenquimales (sarcomas)
C. Neuroectodérmicos con cresta neural <ul style="list-style-type: none">• Nerviosos primitivos: meduloblastoma, tumor de Ewing, etc.• Nerviosos convencionales: neuroblastoma, astrocitomas, etc.• Meníngeos: meningiomas• Pigmentarios: melanomas
D. Otros: germinomas, etc.
II. Patología del sistema mononuclear fagocítico
A. Histiocitosis <ul style="list-style-type: none">• Histiocitosis de histiocitos convencionales• Histiocitosis de células de Langerhans• Trastornos histiocitarios por enfermedades de depósito
B. Granulomas
III. Mastocitosis sistémicas
IV. Infección por virus de la inmunodeficiencia humana
V. Mielopatía reactiva inespecífica tumoral

cia es indicativa de pronóstico adverso⁽¹⁻³⁾. El origen del tumor primario puede establecerse o deducirse por la clínica, la histología convencional, con cierta frecuencia auxiliada por el estudio inmunohistoquímico (IHQ), teniendo en cuenta que en un buen número de casos el origen del tumor metastásico permanece desconocido, planteándose si algunos de ellos son tumores primarios de la MO, como ocurre con el rhabdomyosarcoma embrionario⁽³⁻⁶⁾.

En biopsias de MO (BMO) de adultos, las neoplasias metastásicas más comunes son los carcinomas y, dentro de ellos, el más frecuente es el carcinoma mamario en la mujer (45-53%), seguido por el prostático (14-18%) y el pulmonar (8-17%) en el varón, y ya en menor cuantía, carcinomas gastrointestinales (6%) y renales, entre otros^(1,2,6-8). En este sentido, y microscópicamente mediante tinciones convencionales, se establece que aproximadamente el 20% de los carcinomas mamaros da metástasis en la MO, cifra de porcentaje que para el pulmonar varía entre 5 y 21% (dependiendo del tipo histológico, siendo más frecuente el tipo carcinoma anaplásico de células pequeñas), para el prostático entre 13 y 20%, y para el gastrointestinal un 4%^(1,3,9). En edades pediátricas, las metástasis osteomedulares más frecuentes pertenecen al grupo de tumores malignos de células pequeñas y redondas (TCPR) o "azules", del tipo neuroblastoma, retinoblastoma, rhabdomyosarcoma embrionario, tumor de Ewing, etc.^(1-3,10-12). Concretamente, el neuroblastoma es el tumor sólido de la infancia que más frecuentemente metastatiza en MO, con una afectación que varía entre el 50 y el 70% de los casos^(1,3,9). Más raramente, tumores que también metastatizan en la MO consisten en melanomas, tumores nerviosos (oligodendrogliomas, meduloblastomas, glioblastomas, etc.) y sarcomas (Kaposi, liposarcoma, leiomyosarcomas, etc.), entre otros⁽¹²⁾.

Un tema un tanto controvertido lo constituye el valor de la detección de metástasis óseas en la BMO con respecto al aspirado de MO (AMO). Así, algunos informan de que del total de casos positivos de metástasis en BMO solo entre el 23 y el 33% de los casos lo son también con AMO, resultando este último poco útil en ciertas entidades

como la enfermedad de Hodgkin⁽⁸⁾, todo ello como indicativo de mayor rendimiento diagnóstico de la BMO con respecto al AMO^(6,8,13,14). En contrapartida, otros autores postulan similar proporción de positividad de detección de metástasis por ambos procedimientos, mejorando incluso los resultados del AMO respecto a los de la BMO^(15,16). Las diferencias de resultados parecen obedecer a una distinta metodología de los estudios⁽⁸⁾. En cualquier caso, los carcinomas metastásicos, en buena parte inaspirables por la fibrosis o desmoplasia tumoral, se diagnostican mejor mediante biopsia de trepanación⁽¹²⁾. Al margen de discusiones, parece recomendable complementar la BMO con el AMO, particularmente en la detección de metástasis de tumores de la infancia o TCPR, neoplasias generalmente aspirables mediante AMO^(1,2,6,12,13).

La bilateralidad de la biopsia medular puede cooperar para casos comprobados, en los que la biopsia de un solo lado hubiera eludido el diagnóstico de metástasis^(8,17). En concreto y para el carcinoma anaplásico de células pequeñas de pulmón, Hirsh *et al.*⁽¹⁸⁾ encuentran aproximadamente un 32% de incremento de positividad en las biopsias bilaterales de MO, con respecto a las unilaterales.

Independientemente de las indicaciones clínicas de la BMO y ante la sospecha de metástasis, conviene resaltar su importancia fundamentalmente en:

- Confirmar imágenes radionucleares óseas equívocas.
- Precisar el origen del tumor por las características de las células neoplásicas (melanomas).
- Estudio de extensión de tumores sólidos (carcinoma mamario y microcítico de pulmón).
- Detección de micrometástasis y sus recidivas (carcinoma mamario).
- Valoración terapéutica de algunos tumores (neuroblastomas).

2.1. Histopatología de tumores metastásicos en médula ósea

La microscopía óptica de enfermedad tumoral metastásica en BMO aporta una serie de datos que nos permiten diagnosticar, así como orientar e in-

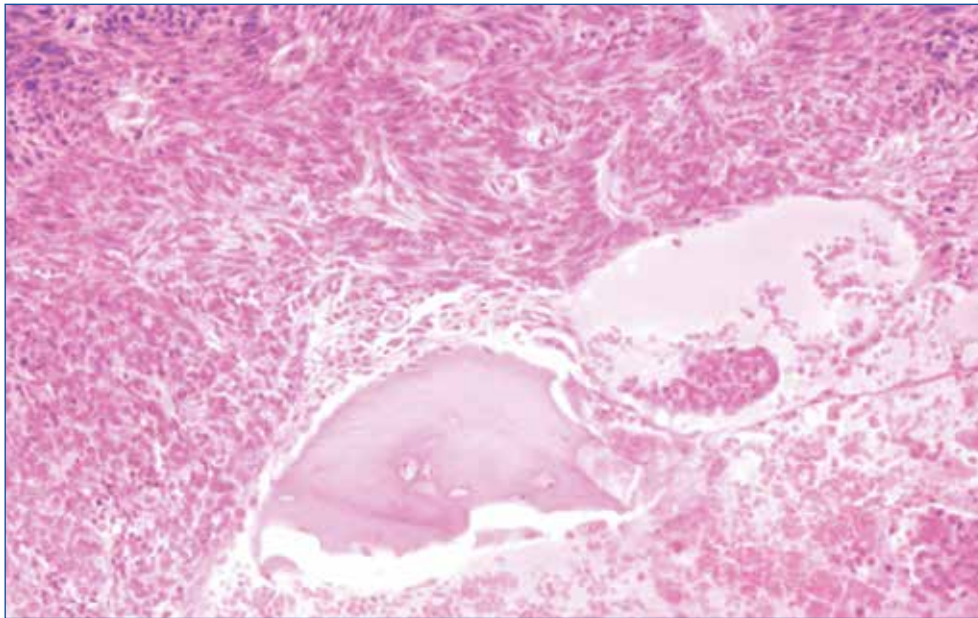


Figura 1. Afectación medular ósea por crecimiento neoplásico de patrón sarcomatoso (HE × 200).

cluso confirmar, el origen del tumor primitivo, por lo que tendremos que valorar diversos aspectos que se detallan a continuación^(1-4, 10-13, 19).

afectación más focal en grupos celulares cohesivos (masas, nidos y cordones) es indicativa de carcinoma (**Figuras 1 y 2**).

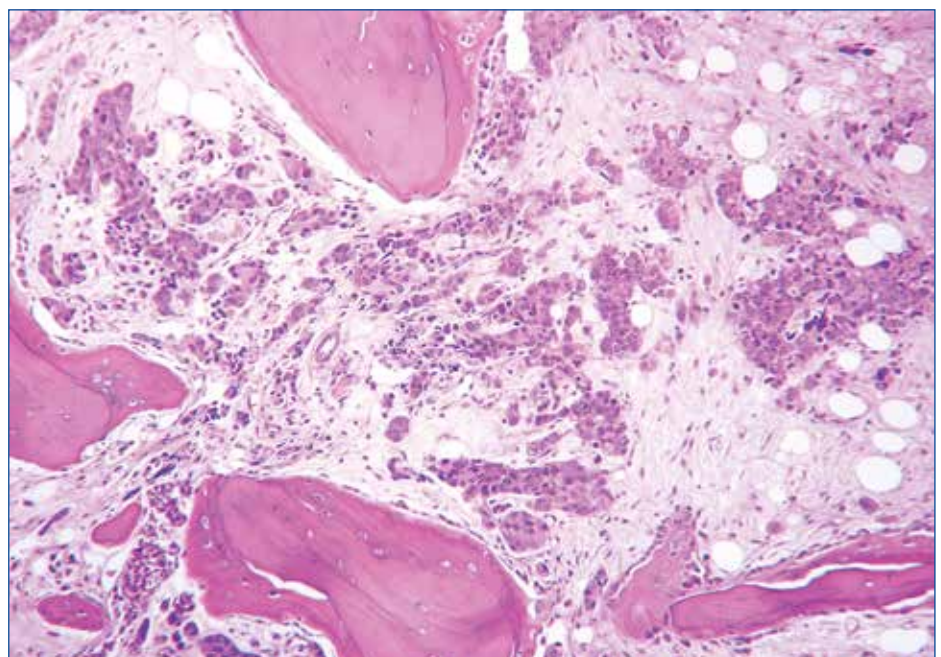
2.1.1. Distribución del infiltrado neoplásico

Infiltrados de MO difusos en “sábana” son más propios de sarcomas y linfomas, mientras que una

2.1.2. Reacción estromal desmoplásica

Los tumores óseos secundarios fibrogénicos con osteogénesis y osteoclasia suelen ser ciertos carci-

Figura 2. Metástasis en médula ósea de un carcinoma organizando masas, nidos y cordones celulares sólidos, muy cohesivos y separados por estroma fibroconectivo (HE × 100).



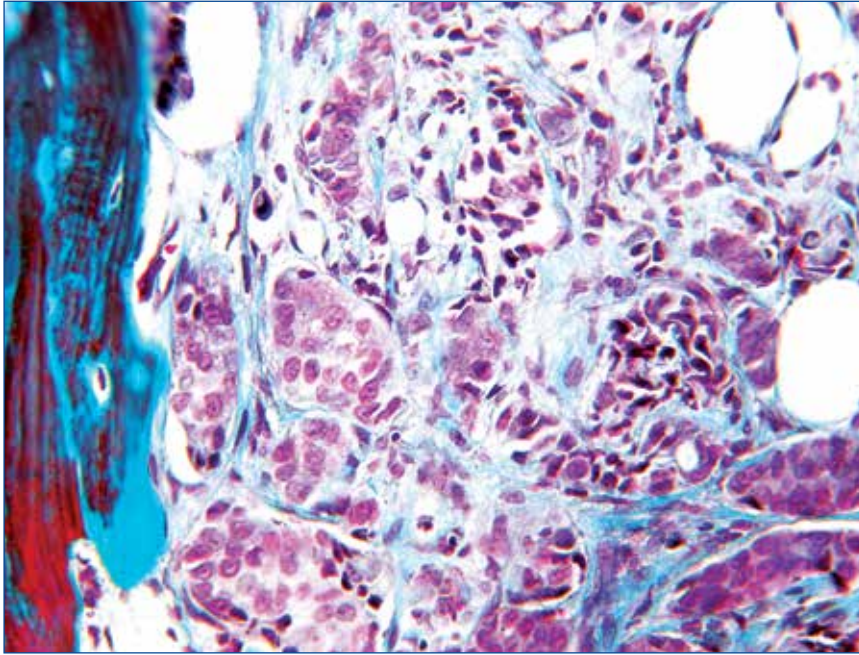


Figura 3. Nidos y cordones carcinomatosos separados por estroma rico en fibras de colágena (fibrogénico o desmoplásico) de coloración verdosa (Tricrómico de Masson $\times 200$).

nomas (mama y próstata) y sarcomas. Tumores no fibrogénicos suelen tener tasa rápida de crecimiento del tipo TCPR (**Figuras 3 y 4**).

2.1.3. Patrón de crecimiento tumoral

Según la ordenación de las células neoplásicas, distinguimos entre carcinomas y otros.

- Carcinomas bien diferenciados (glandulares). Si organizan tubos o conductos (mama), papilas (ováricos), estructuras tubulopapilares (intestino), acinos o microglándulas (próstata), folículos (tiroides) (**Figuras 5 a 8**).
- Carcinomas poco diferenciados (sólidos). Organizan masas, nidos y cordones (pulmones y mama) o regueros celulares sueltos (gastrointestinales de células en “anillo de sello”) o células

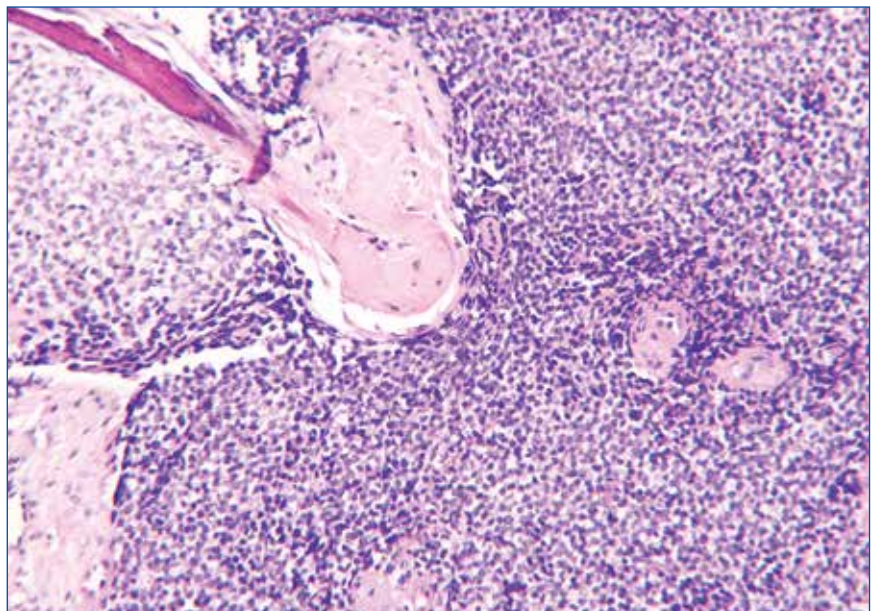


Figura 4. Neoplasia hiper celular con escaso estroma en un caso de tumor de Ewing (HE $\times 100$).

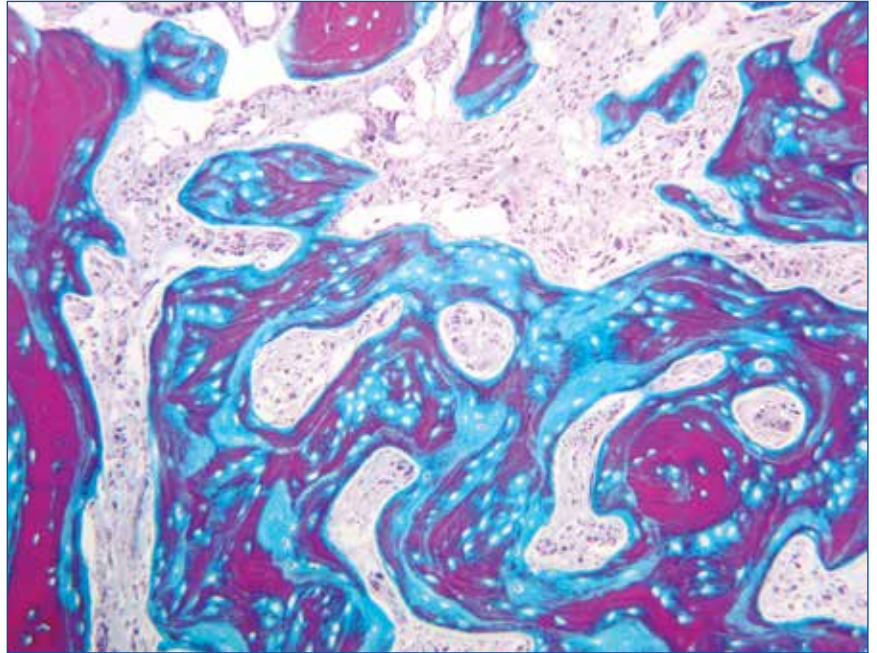


Figura 5. Engrosamiento osteoesclerótico de las trabéculas óseas, con estrechamiento de las celdillas medulares. Metástasis osteoblástica de un carcinoma prostático (Tricrómico de Masson $\times 100$).

en “fila india” (carcinoma mamario lobulillar) (**Figuras 9 y 10**).

- Otras neoplasias no epiteliales secundarias de MO. Patrón sólido (melanomas), patrón estoriforme (fibrohistiocitomas malignos), patrón vascular (angiosarcomas y enfermedad de Kaposi), dispositivos en rosetas nerviosas de tipo Wright (neuroblastomas y meduloblastomas) (**Figura 11**).

2.1.4. Tipo celular

2.1.4.1. Tamaño celular

Si es de células pequeñas y en la infancia: linfomas, neuroblastomas, tumor de Ewing, etc.; mientras que en adultos: carcinomas neuroendocrinos de células pequeñas de pulmón. De células grandes:

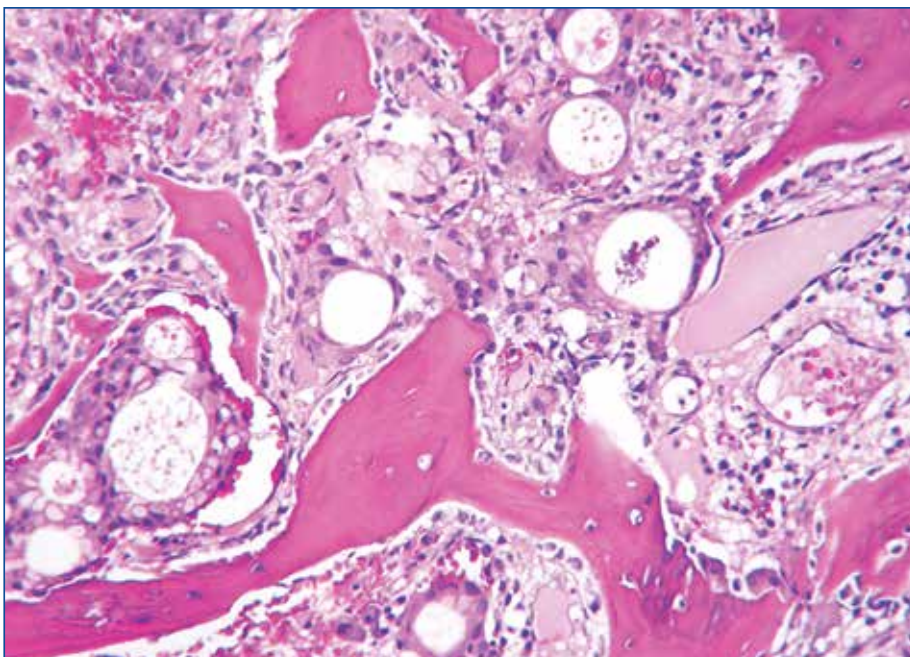


Figura 6. Metástasis osteomedular de carcinoma con patrón de crecimiento glanduloide tubular por un adenocarcinoma intestinal (HE $\times 200$).

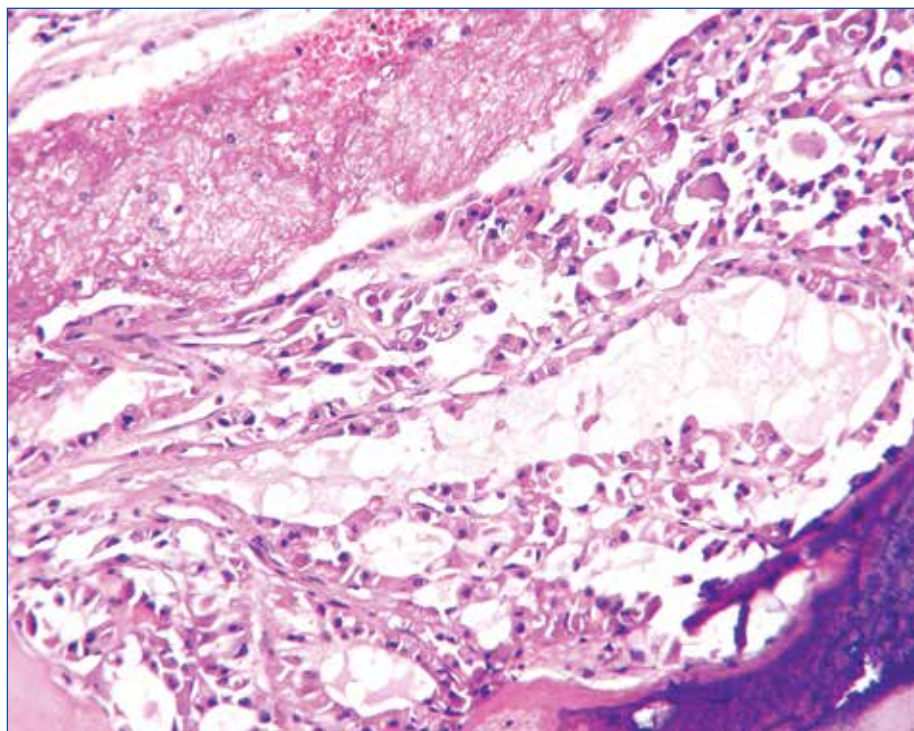


Figura 7. Metástasis en médula ósea de un carcinoma papilar de tiroides con patrón folicular (HE \times 200).

carcinomas broncopulmonares, mama (ductales) y de próstata, así como melanomas. Los de células gigantes suelen ser carcinomas anaplásicos de pulmón, sarcomas pleomórficos y glioblastomas multiformes, entre otros (Figuras 12 y 13).

2.1.4.2. Forma celular

Células redondas en el grupo TCPR, células poligonales (carcinomas sólidos y escamocelulares), células fusiformes (carcinomas, sarcomas y melano-

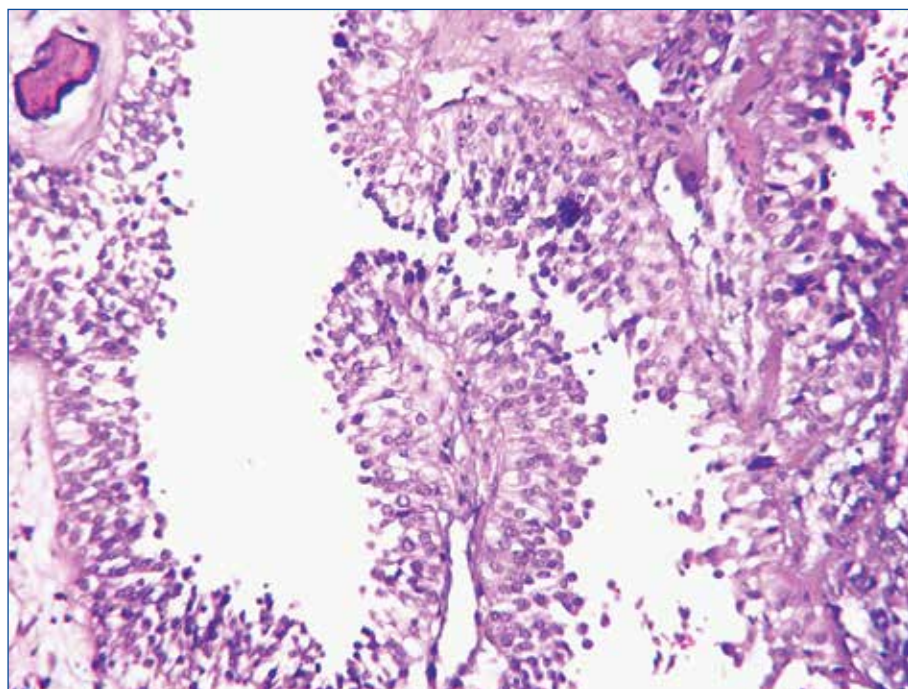


Figura 8. Metástasis ósea de carcinoma papilar de células transicionales de vejiga (HE \times 200).

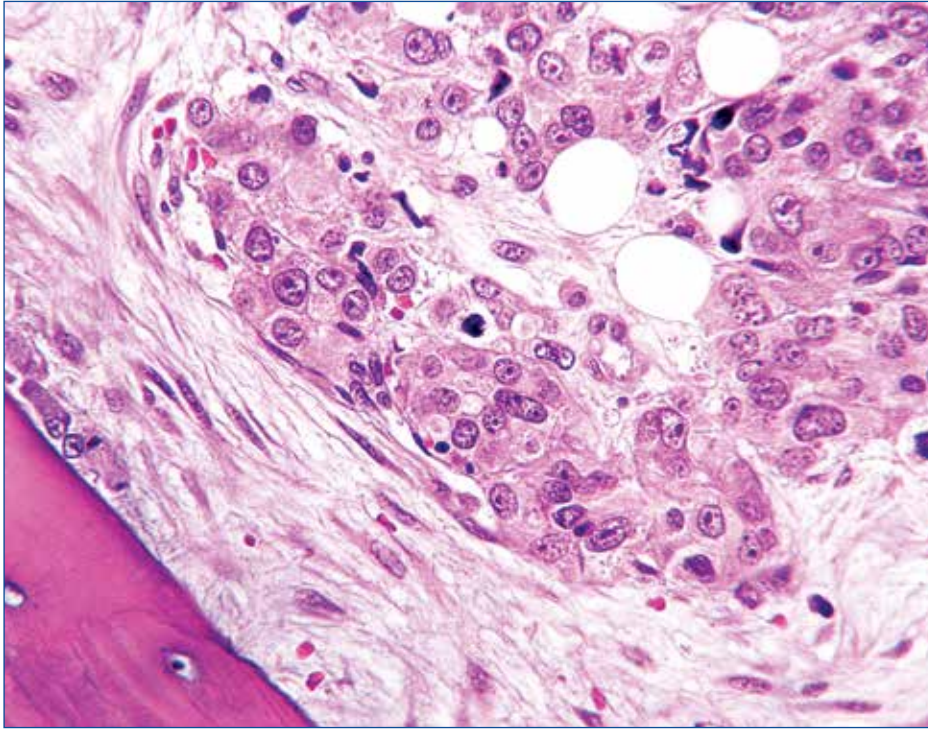


Figura 9. Neoplasia de crecimiento sólido a expensas de nidos y cordones de células con atipias y figuras de mitosis (HE $\times 400$).

mas), células pleomórficas (sarcomas y carcinomas anaplásicos pulmonares).

2.1.4.3. Citoplasma celular

Por sus características y contenido citoplasmático distinguimos: célula clara por contenido glucogénico (carcinomas renales, pulmonares y ováricos), célula escamosa queratogénica (carcinoma epidermoide pulmonar), célula granulosa eosinófila (carcinoma apocrino mamario y de células de Hürthle de tiroides), célula con mucina intracelular (carcinoma de células en "anillo de sello" gastrointestinal) u otros productos citoplasmáticos tales como melanina (melanoma), etc. (Figuras 14 a 17).

Cabe, por último, señalar que aisladamente muchas de las características histológicas reflejadas, particularmente las referidas a la distribución del infiltrado tumoral, el patrón de crecimiento y la reacción estromal, son solo signos algo orientadores o poco específicos para tipificar el tumor primario^(1,2), por lo que el diagnóstico debe sustentarse en la valoración conjunta de varias características.

Teniendo en cuenta todo lo anteriormente comentado, se propone la clasificación de tumores metastásicos de la MO, basada en criterios histológicos e histogenéticos, que se refleja en la [Tabla 2](#).

2.2. Inmunohistoquímica de tumores metastásicos en médula ósea

En BMO las técnicas mediante IHQ resultan de gran ayuda para el estudio de histopatología convencional. No solo porque reafirman impresiones diagnósticas al microscopio óptico, sino porque también auxilian en la detección de células tumorales, preferentemente en micrometástasis, o incluso en la valoración de masa tumoral con respecto al tejido medular sano a efectos pronósticos. Por otra parte, la IHQ permite evaluar la actividad funcional de células tumorales (detección de receptores y hormonas), así como valorar factores pronósticos concernientes a la maduración celular (neuroblastoma), a la actividad proliferativa y a las características oncogénicas de la neoplasia ([Tabla 3](#)).

De la correlación entre citomorfología, estructura y actividad funcional del tumor, con sus marcadores IHQ respectivos, se pueden establecer las

Tabla 2. Tumores metastásicos de médula ósea (clasificación)

I. Tumores epiteliales (carcinomas)	
A. Bien diferenciados <ul style="list-style-type: none"> • Exocrinos <ul style="list-style-type: none"> – Adenocarcinomas convencionales <ul style="list-style-type: none"> - Ductal (mama) - Acinar (próstata) - Papilar (ovario) - Tubulopapilar (intestino) – Adenocarcinomas mucosecretorios <ul style="list-style-type: none"> - Coloides (gastrointestinales y mama) – Formas especiales (tipo celular) <ul style="list-style-type: none"> - Célula clara (riñón) - Escamosa (pulmón) - Célula granulosa acidófila (cáncer apocrino de mama) • Endocrinos <ul style="list-style-type: none"> – Folicular y/o papilar (tiroides) 	
B. Pobrementemente diferenciados <ul style="list-style-type: none"> • Carcinomas sólidos <ul style="list-style-type: none"> – Masas, nidos y cordones (mama y pulmón) • Carcinomas mucosecretorios <ul style="list-style-type: none"> – Regueros celulares (cáncer de células en “anillo de sello” gastrointestinal) – Regueros en “fila india” (cáncer lobulillar de mama) • Carcinomas anaplásicos <ul style="list-style-type: none"> – Célula pequeña (cáncer de célula en “grano de avena” de pulmón) – Células grandes o gigantes (pulmón y tiroides) • Formas especiales <ul style="list-style-type: none"> – Células claras (pulmón) 	
II. Tumores mesenquimales	
<ul style="list-style-type: none"> • Sarcomas <ul style="list-style-type: none"> – Fusocelulares (fibrosarcoma, leiomiomasarcoma, etc.) – Células redondas y pequeñas (rhabdomyosarcoma embrionario, tumor de células pequeñas desmoplásico) – Pleomórficos (fibrohistiocitomas malignos, liposarcoma, etc.) – Origen incierto o discutido (sarcoma epiteliode, enfermedad de Kaposi, sarcoma sinovial, tumor rabdoide maligno, etc.) 	
III. Tumores neuroectodérmicos (neuroeje y cresta neural)	
<ul style="list-style-type: none"> • Nerviosos primitivos <ul style="list-style-type: none"> – Meduloblastoma, tumor primitivo neuroectodérmico/Ewing • Nerviosos convencionales <ul style="list-style-type: none"> – Neuroblastoma, astrocitoma (glioblastoma multiforme, oligodendroglioma, estesioblastoma, retinoblastoma) • Meníngeos <ul style="list-style-type: none"> – Meningiomas malignos • Neuroendocrinos <ul style="list-style-type: none"> – Tumor carcinoide • Sistema pigmentario <ul style="list-style-type: none"> – Melanoma 	
IV. Otros tumores	
<ul style="list-style-type: none"> • Tumores de células germinales <ul style="list-style-type: none"> – Germinoma (seminomas, teratomas malignos) 	

Tabla 3. Tipificación de tumores metastásicos de médula ósea (bases para el estudio inmunohistoquímico)

I. Citomorfología
<ul style="list-style-type: none"> • Célula pequeña (redondas) • Célula grande (poligonales) • Célula gigante • Célula clara • Célula granular eosinófila
II. Patrón de crecimiento histológico
<ul style="list-style-type: none"> • Difuso o en sábana • Folicular, papilar, tubular, etc.
III. Actividad funcional
<ul style="list-style-type: none"> • Hormonal o receptores hormonales • Otros productos
IV. Factores pronósticos ^a
<ul style="list-style-type: none"> • Maduración celular • Antioncogenes u oncogenes: p-53 • Marcadores de proliferación celular: Ki67

^a Técnicas opcionales

Tablas 4 a 10 y las Figuras 18 a 27, cuya realización se fundamenta en datos extraídos de la revisión de la literatura^(1,2,7,10,12,13,19).

Como mínimo, en MO se debe disponer de un panel IHQ de anticuerpos que funcionen en secciones de parafina, para neoplasias poco diferenciadas, que abarque⁽²⁾:

- Marcadores epiteliales (citoqueratina –CK– y antígeno de membrana epitelial –AME–).
- Marcadores mesenquimales (vimentina, desmina, CD34).
- Marcadores nerviosos (enolasa neuronoespecífica –ENE– y cromogranina).
- Marcadores melánicos (proteína S-100, Melan A y HMB-45).

Por último, también cabe indicar que los estudios IHQ deben valorarse en su contexto clínico y citohistopatológico, para evitar errores diagnósticos concernientes a la especificidad de los anticuerpos o de los marcadores tumorales empleados. Así, dentro de los tumores de células pequeñas, los rabdomiosarcomas pueden expresar CD56, al igual que las leucemias agudas o incluso algunos neuroblastomas, aunque los primeros ofrecen positividad para marcadores miogénicos (actina, mio-genina, desmina) y negatividad para otros marcadores hematopoyéticos (CD45) y neuroendocrinos (cromogranina); o los blastos de la leucemia expresan CD34, como los angiosarcomas, aunque estos últimos expresan también CD31 y factor VIII, junto a un patrón histológico diferente⁽³⁾.

Entre otros estudios complementarios en bloques de parafina de BMO, se encuentran los citogenéticos y mediante hibridación fluorescente *in situ* (FISH)⁽¹²⁾. De utilidad diagnóstica bastante puntual para el sarcoma de Ewing/tumor neuroectodérmico primitivo (TNEP) es la detección de la t(11;22)(q24;q12) y de la fusión de genes *EWS-FLI-1*, así como para el rabdomiosarcoma alveolar la detección de la t(2;13)(q35;q14) y de la fusión de genes *PAX3-FKHR*, entre otros.

3. Patología del sistema mononuclear fagocítico: histiocitosis

Revisaremos brevemente lesiones o proliferaciones histiocitarias de tipo histiocitosis^(1,3,13,20). El término de histiocitosis se aplica habitualmente para aquellas condiciones patológicas que cursen con proliferación

Tabla 4. Afectación secundaria de la médula ósea por tumores de células pequeñas y redondas

Tumor	Marcador inicial	Marcador adicional
Linfomas/Leucemias	CD-45	CD-3, CD-20, etc.
Carcinoma grano avena/carcinoide	CK, ENE	Cromogranina, sinaptofisina, CD-56
Neuroblastoma/Retinoblastoma	ENE	Sinaptofisina, neurofilamentos, cromogranina
Tumor de Ewing	Vimentina	CD-99, FLI-1
Rabdomiosarcoma embrionario	Vimentina	Desmina, actina, MYOD-1, etc.
Carcinoma lobulillar	CK	RE

CK: citoqueratina AE1/AE3; ENE: enolasa neuronoespecífica; RE: receptores de estrógenos

Tabla 5. Afectación secundaria de médula ósea por tumores de células grandes, redondas o poligonales

I. Carcinomas	Citoqueratinas (CK)
Uroteliales o transición	CK-7 y CK-20
Escamoso o epidermoide	CK-10
Adenocarcinoma	CK-8-18 y 19
II. Sarcomas	
Epitelioides	CK, vimentina, AME
III. Sistema pigmentario	
Melanoma	pS-100, HMB-45, Melan-A
IV. Linfomas	CD-45
Tipo B	CD-20 y CD-79a
Tipo T	CD-3 y CD-43

AME: antígeno de membrana epitelial

Tabla 6. Metástasis en médula ósea por tumores de células gigantes

I. Carcinomas	
Pulmonares	CK, TTF-1, p53
Tiroides	CK, tiroglobulina
II. Sarcomas de partes blandas	
Rabdomiosarcoma	Desmina, actina, miogenina, Mio-D1
Fibrosarcoma	Vimentina
III. Nerviosos	
Glioblastoma multiforme	PGFA
IV. Células germinales	
Coriocarcinoma	HCG, CK

CK: citoqueratinas; HCG: gonadotropina coriónica; p53: proteína tumoral 53; PGFA: proteína gliofibrilar ácida; TTF-1: factor de transcripción tiroidea

o aumento sistémico de histiocitos o macrófagos, que tienden a adoptar distribución difusa o dispersa; por tanto, con nula o escasa capacidad de formar granulomas. Con todo, son numerosos los procesos patológicos reconocidos como histiocitosis y que afectan a la MO. Se clasifican en la [Tabla 11](#) lo más sucintamente posible, junto con una breve explicación, y se presentan algunos ejemplos.

Se consideran 3 importantes grupos:

- Las histiocitosis de histiocitos convencionales o células con actividad fagocítica.
- Las histiocitosis de células de Langerhans (HCL) o de histiocitos con facultad presentadora de antígenos.

- Grupo de desórdenes histiocitarios por acúmulo de sustancias anormales que tienen como base un trastorno en la actuación de enzimas lisosomales.

3.1. Histiocitosis de histiocitos convencionales

3.1.1. Trastornos histiocitarios benignos

3.1.1.1. Histiocitosis reactivas

Se considera como el aumento difuso de histiocitos de la MO que obedece a una reacción inespecífica

Tabla 7. Metástasis en médula ósea de tumores de células claras

I. Carcinomas	
Renales	Vimentina, CK, CD-10, CCR
Hepáticos	AFP
Pulmonares	CK
Tiroides	Tiroglobulina
II. Sarcomas	
Leiomioblastoma y leiomiocarcinoma	Desmina, actina, caldesmón
III. Sistema pigmentario	
Melanoma	pS-100, Melan-A, HMB-45
IV. Células germinales	
Germinoma	Vimentina, LP, CD-117

AFP: α -fetoproteína; CCR: carcinoma de células renales; CK: citoqueratinas; LP: lactógeno placentario

Tabla 8. Metástasis en médula ósea de tumores de células granulares eosinófilas

I. Carcinomas	
Renales	Vimentina, CK
Hepáticos	AFP, CD-10, hepatocito
Tiroides (células de Hürthle)	Tiroglobulina
Mama (célula apocrina)	ACE, CK, RE, RP
II. Sarcomas	
Epiteliode	Vimentina, CK, AME
III. Sistema pigmentario	
Melanoma	pS-100, Melan-A, HMB-45

ACE: antígeno carcinoembrionario; AFP: α -fetoproteína; AME: antígeno de membrana epitelial; CK: citoqueratinas; RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona

Tabla 9. Tumores secundarios de médula ósea.
Patrón histológico tumoral

A. Difuso o en "sábana"	
Sarcomas y linfomas secundarios	Vimentina, CD-45
B. Tubular o acinar	
Carcinoma colorrectal	CK-20, villina, CD X2, MUC-2
Adenocarcinoma pulmonar	TTF-1
C. Folicular	
Carcinomas de tiroides	Tiroglobulina
D. Papilar	
Carcinomas ováricos	CK, AME, ACE
Carcinomas de tiroides	CK, tiroglobulina, TTF-1
E. Trabecular (sólido)	
Carcinomas hepáticos	AFP
F. Reguero celular suelto	
Carcinoma lobulillar mamario	CK, RE, RP
G. Vascular	
Hemangiosarcomas	Factor VIII, CD-31, CD-34
Enfermedad de Kaposi	CD-34
H. Rosetas (Wright)	Cromogranina, sinaptofisina

ACE: antígeno carcinoembrionario; AFP: α -fetoproteína; AME: antígeno de membrana epitelial; CK: citoqueratinas; RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona

Tabla 10. Metástasis en médula ósea de tumores con actividad funcional

I. Hormonas o receptores hormonales	
• Carcinomas	
– Medular de tiroides	Tiocalcitona
– Folicular de tiroides	Tiroglobulina
– Mama y endometrio	RE, RP
• Tumores de células germinales	
– Germinoma	LP
– Corioepitelioma	HCG
II. Otras sustancias	
• Carcinoma prostático	PSA, fosfatasa ácida prostática
• Hepatocarcinomas	AFP

AFP: α -fetoproteína; HCG: gonadotropina coriónica; LP: lactógeno placentario; PSA: antígeno prostático específico; RE: receptores de estrógenos; RP: receptores de progesterona

por causas diversas, como infecciones, inflamaciones de origen inmune, trastornos hematológicos, enfermedades no hematopoyéticas, drogas, etc. La detección de aumento de macrófagos en MO sin actividad fagocítica resulta difícil de valorar. Con técnicas IHQ (particularmente utilizando anti-CD68) nos podemos hacer una idea del incremento de histiocitos que, en ausencia de actividad fagocítica, suelen mostrar un aspecto estrellado con finas prolongaciones que configuran imágenes a modo

Tabla 11. Patología del sistema mononuclear fagocítico I. Histiocitosis

A. Histiocitosis de histiocitos convencionales
• Histiocitosis reactivas inespecíficas
• Histiocitosis hemofagocítica
– Familiar
– Asociadas a infección, neoplasias, etc.
• Histiocitosis sinusal con linfadenopatía masiva (síndrome de Rosai-Dorfman)
• Leucemia monocítica
• Histiocitosis maligna
– Tipo macrófago
– Tipo célula dendrítica
• Verdaderos linfomas histiocíticos
– Tipo macrófago-monocito
– Tipo célula dendrítica
B. Histiocitosis de células de Langerhans
• Granuloma eosinófilo
• Granulomas eosinofílicos multifocales (enfermedad de Hand-Schüller-Christian)
• Histiocitosis progresiva diseminada (enfermedad de Letterer-Siwe)
C. Trastornos histiocitarios por enfermedades de depósito
• Trastornos de depósito constitucionales
– Esfingolipidosis (enfermedad de Gaucher, enfermedad de Niemann-Pick, etc.)
– Glicoproteinosis (fucosidosis)
– Mucopolipidosis
– Mucopolisacaridosis
– Otras (enfermedad de Pompe, enfermedad de Wolman)
• Trastornos de depósito adquiridos
– Neoplásicos
– Linfomas, leucemias, mielomas, etc.
– No neoplásicos
– Hiperlipidemias, enfermedades infecciosas, arteritis de Takayasu, etc.

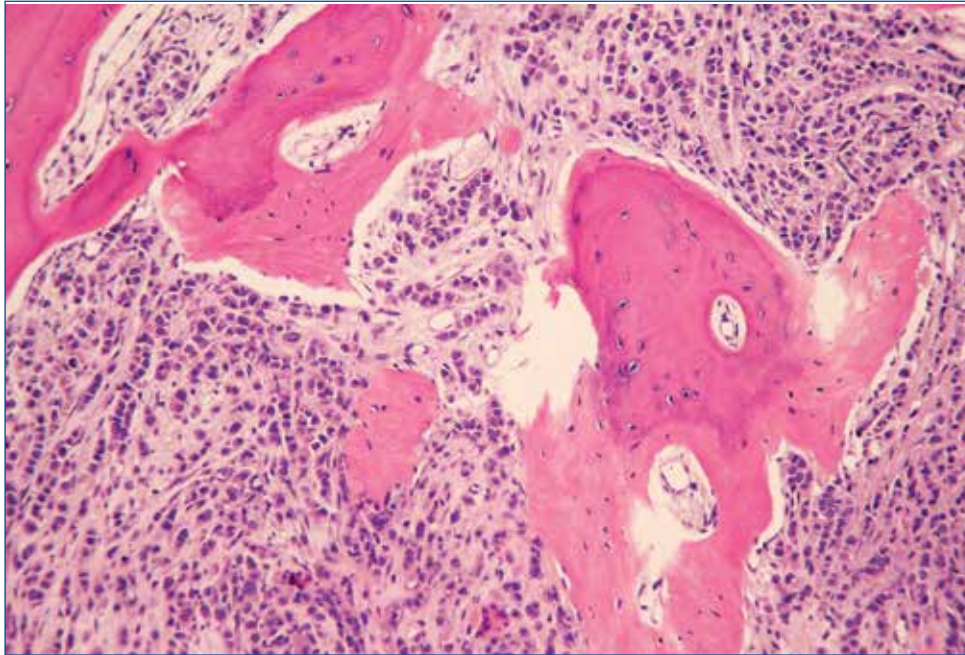


Figura 10. Regueros celulares con disposición en “fila india” en un caso de metástasis osteomedular por un carcinoma lobulillar de mama (HE \times 200).

“de retículo” (Figuras 28 a 30). En las histiocitosis reactivas hay incremento de histiocitos dispersos que muestran citoplasmas agrandados y pálidos, de aspecto vacío. En estas histiocitosis, las alteraciones microscópicas son secundarias y no ofrecen repercusiones clínicas sistémicas, a diferencia de los síndromes hemofagocíticos que expondremos a continuación.

3.1.1.2. Histiocitosis en síndromes hemofagocíticos

Grupo de desórdenes histiocitarios caracterizados por incremento de histiocitos con evidente actividad hemofagocítica y con consiguiente citopenia (Figura 31). Clínicamente, suelen ofrecer hepatoesplenomegalia, linfadenopatía y fiebre. Su presentación puede ser hereditaria o familiar, o de

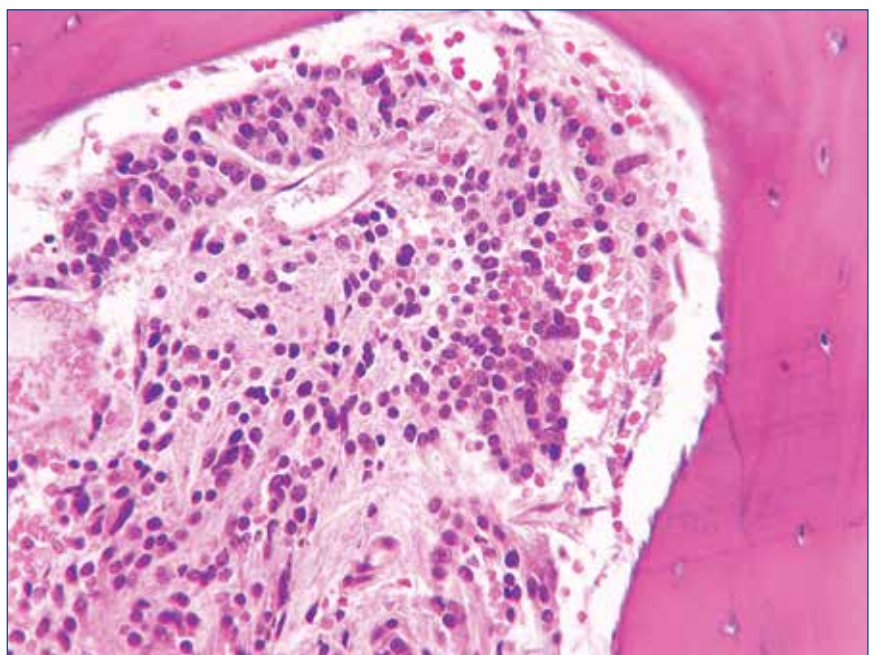


Figura 11. Metástasis ósea de un neuroblastoma cuyas células tienden a agruparse en círculo en torno a un centro fibrilar (rosetas de Wright) (HE \times 400).

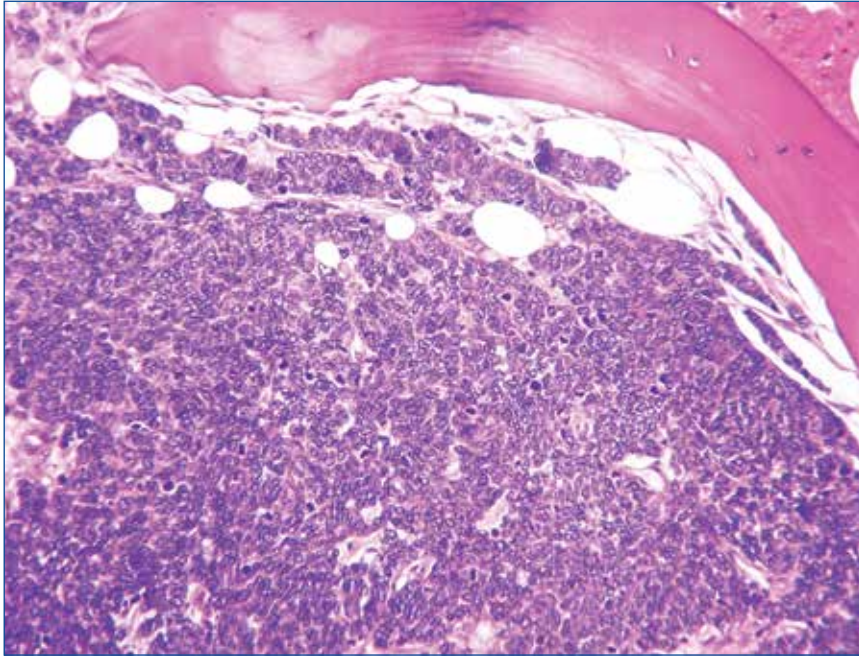


Figura 12. Celdilla medular extensamente invadida por un tumor maligno de células pequeñas y redondas de tipo Ewing (HE \times 200).

forma esporádica en relación con síndromes constitucionales (síndrome de Chediak-Higashi, enfermedad venooclusiva con inmunodeficiencia, etc.) o condiciones adquiridas de carácter no neoplásico (enfermedades autoinmunes, embarazo, enfermedad de Kikuchi, infecciones por microorganismos particularmente víricas, etc.) o neoplásicas (linfomas, HCL y carcinomas). El término de hemofago-

citosis también hace referencia a la fagocitosis de células hematopoyéticas nucleadas, como ocurre en la histiocitosis sinusal con linfadenopatía masiva (enfermedad de Rosai-Dorfman), donde lo característico es la emperipolesis o fenómeno pasivo en el que se produce una penetración de linfocitos en el citoplasma histiocitario (no tratándose por tanto de una verdadera fagocitosis).

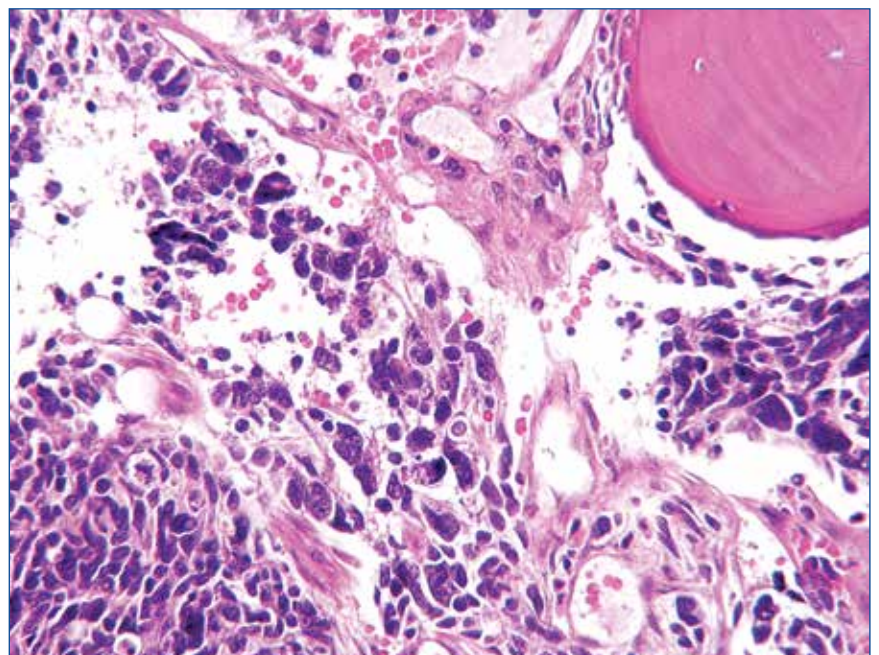


Figura 13. Invasión de médula ósea por un carcinoma de células grandes, pleomórficas y/o multinucleadas (HE \times 400).

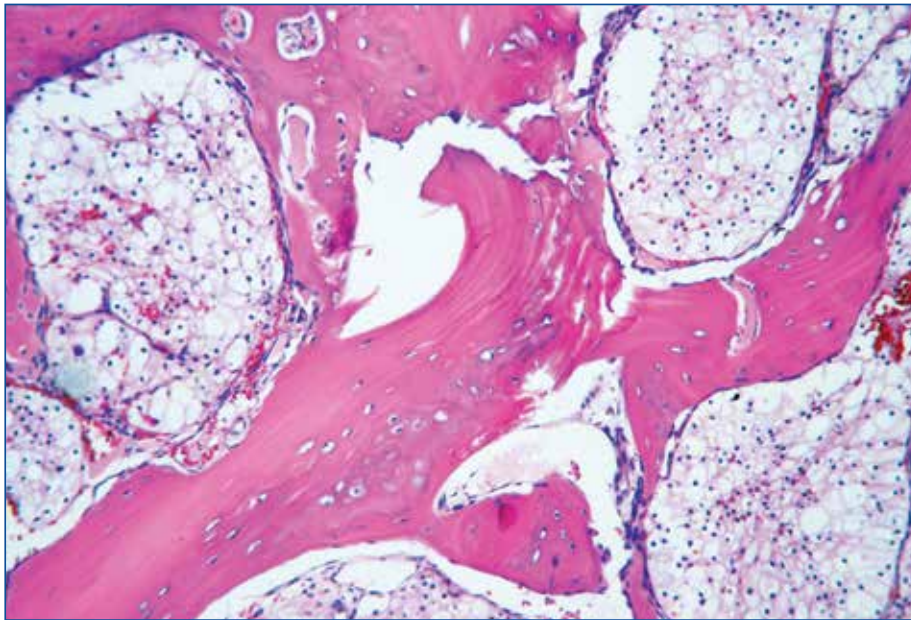


Figura 14. Trabéculas óseas gruesas rodeando celdillas medulares masivamente ocupadas por células de citoplasma claro. Metástasis de un carcinoma renal de células claras (HE \times 200).

3.1.2. Trastornos histiocitarios malignos

Una buena correlación entre la morfología (proliferación masiva de histiocitos atípicos con mitosis) y la clínica (estudio hematológico y de extensión del proceso) nos permite precisar si verdaderamente nos encontramos ante una histiocitosis maligna, un linfoma histiocítico o una leucemia monocítica. El estudio IHQ nos ayuda incluso a precisar si se

trata de macrófagos convencionales (CD68 positivo) o células dendríticas (CD21, CD23 y CD35 positivos) (**Figuras 32 y 33**).

3.2. Histiocitosis de células de Langerhans

Reconocidas anteriormente como histiocitosis X, comprenden un grupo de enfermedades caracteri-

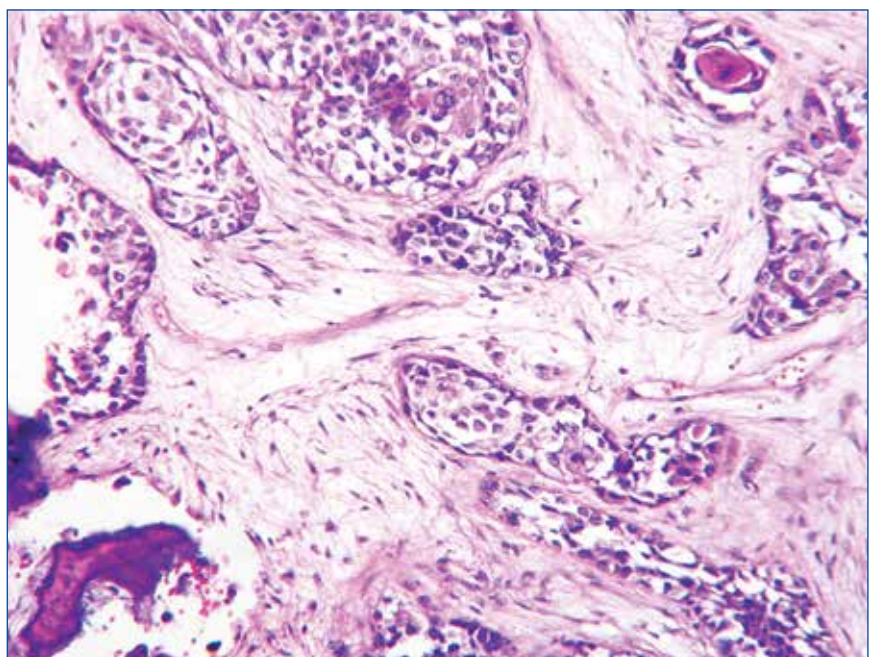
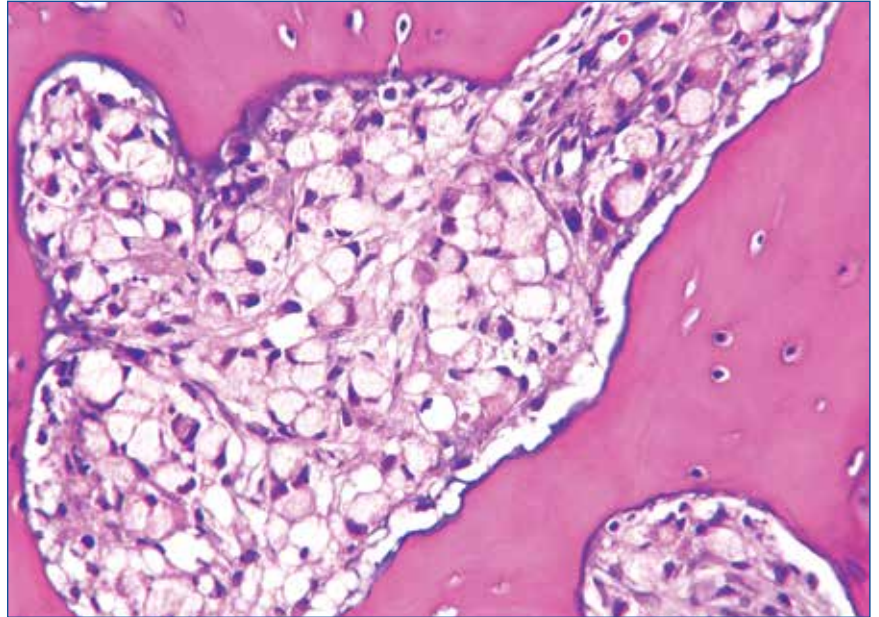


Figura 15. Metástasis ósea de un carcinoma epidermoide. Nidos y cordones de células poligonales dehiscentes o acantolíticas, con tendencia a la queratinización (HE \times 100).

Figura 16. En espacios medulares se observan nidos de células sueltas con vacuola clara citoplasmática rechazando periféricamente al núcleo. Metástasis ósea de un carcinoma de células en "anillo de sello" (HE $\times 200$).



zadas por proliferación de células de Langerhans, células de naturaleza histiocitaria, que tienen por misión la de actuar como presentadoras de antígenos y sin capacidad fagocítica. Atendiendo a sus manifestaciones clínicas, localización, extensión, evolución o gravedad del proceso, se reconoce fundamentalmente con los términos de granuloma eosinófilo, enfermedad de Letterer-Siwe y enfermedad de Hand-Schüller-Christian. El hueso, y por

tanto la MO, es la afectación más frecuente, hasta en un 80% de los casos⁽¹³⁾. Microscópicamente, se aprecia infiltrado difuso, parcheado o focal de la MO, por parte de histiocitos voluminosos de núcleo reniforme, indentado, cerebriforme o convoluto y con infrecuentes mitosis, que se entremezclan con variable cantidad de eosinófilos, neutrófilos, linfocitos, plasmocitos, macrófagos cargados de lípidos y células gigantes con transformación xan-

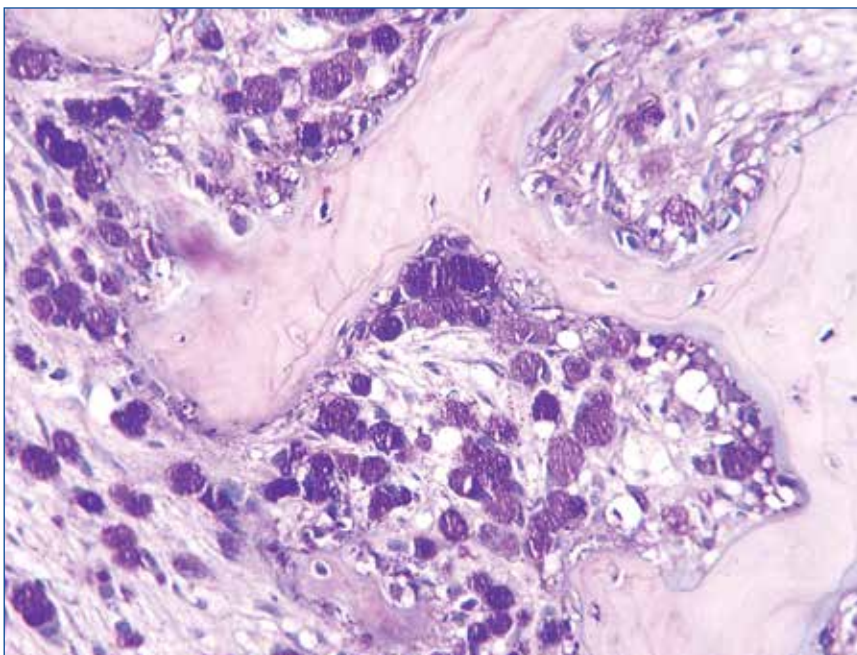
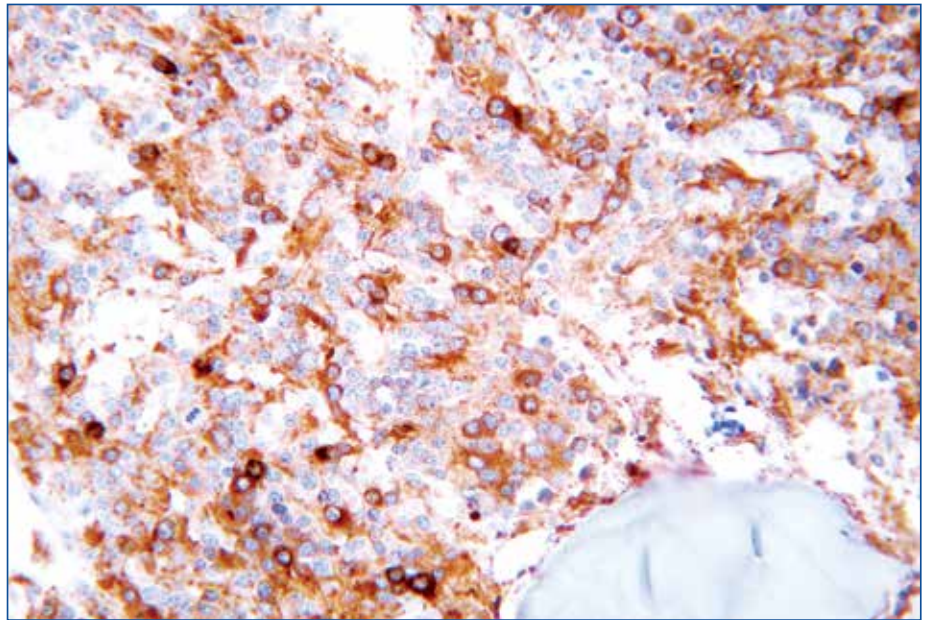


Figura 17. En celdillas medulares se observan células con vacuola mucosecretora de color púrpura (PAS+), en un caso de metástasis de un carcinoma de células en "anillo de sello" (PAS-hematoxilina $\times 400$).

Figura 18. Células y matriz tumoral con inmunotinción positiva (color marrón) para un marcador neuroendocrino. Metástasis de neuroblastoma (peroxidasa antiperoxidasa –PAP–. Cromogranina $\times 200$).



tomatosa^(12,21). Generalmente, existe fibrosis, lo que justifica el mejor rendimiento de la biopsia medular respecto al aspirado⁽¹²⁾ (**Figuras 34 y 35**). Al microscopio electrónico, las células de Langerhans presentan característicos cuerpos raquetoides de Birbeck. Inmunohistoquímicamente, los histiocitos de Langerhans expresan proteína S-100, vimentina y, más específicamente, el antígeno CD1a (**Figura 36**). La IHQ es importante en el diagnóstico dife-

rencial de la HCL con otras entidades patológicas, como la leucemia monocítica (negativa para PS-100 y CD1a), neoplasias de células dendríticas plasmocitoides (positivas para CD4 y CD56) y tumor de células dendríticas folicular (falta de expresión de CD1a y PS-100). En el sarcoma de células de Langerhans, con positividad IHQ similar a la HCL, se hace imprescindible la valoración histológica (atipia celular y figuras de mitosis)⁽¹²⁾.

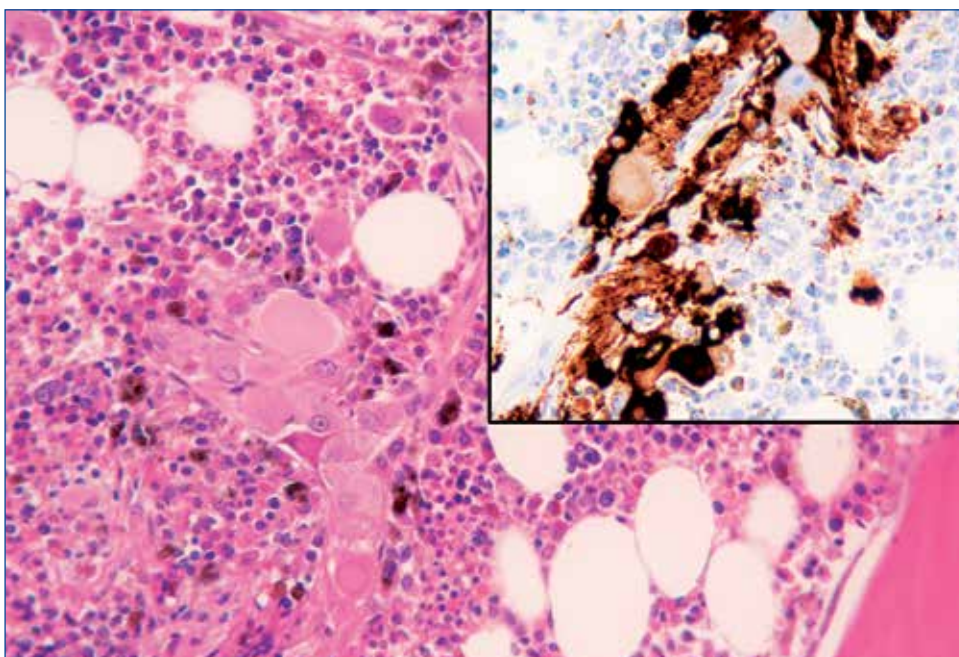


Figura 19. Maduración hacia células grandes ganglionares nerviosas, en foco metastásico de neuroblastoma sometido a tratamiento (HE $\times 200$. Recuadro PAP: cromogranina $\times 200$).

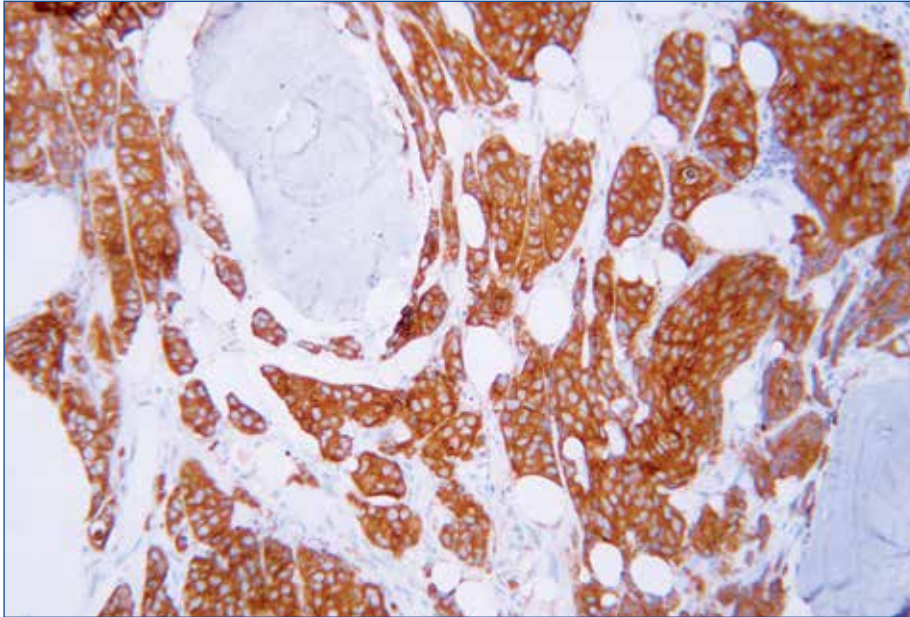


Figura 20. Espacios medulares invadidos por nidos y cordones sólidos con inmunotinción positiva para un marcador epitelial (PAP. Citoqueratinas AE1-AE3 \times 200).

3.3. Trastornos histiocitarios por enfermedades de depósito

De forma general, los trastornos histiocitarios por depósito hacen referencia a la presencia de histiocitos con sobrecarga de productos que han sido sintetizados o fagocitados por la célula y que no pueden ser con posterioridad procesados o metabolizados. Por tanto, en la MO hay incremento del número de

histiocitos y del tamaño de los mismos, que ofrecen depósitos de carbohidratos, lípidos, pigmentos, cuerpos extraños o productos exógenos a la célula.

3.3.1. Trastornos de depósito constitucionales

Los trastornos de depósito constitucionales comprenden un grupo de enfermedades hereditarias

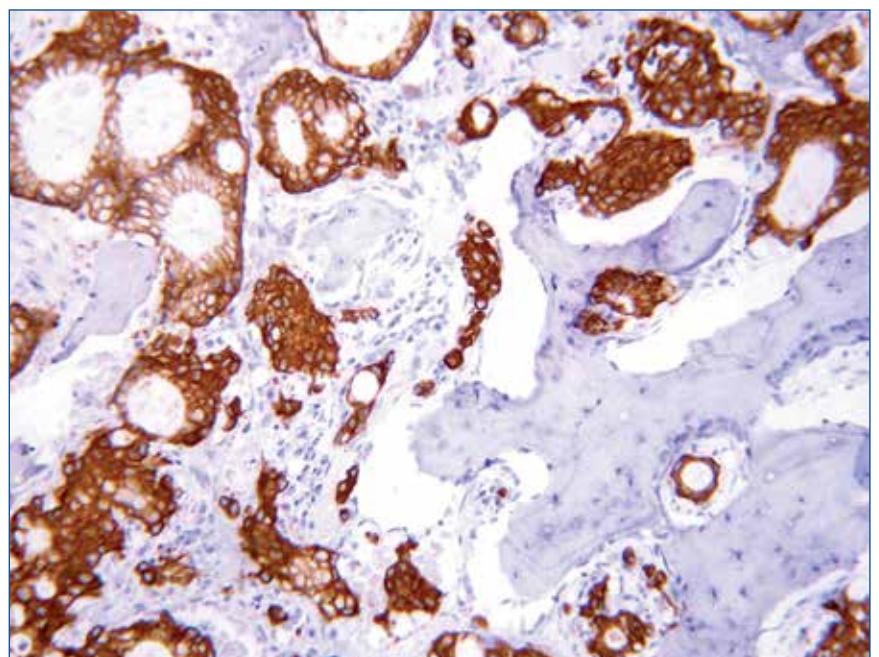


Figura 21. Metástasis medular ósea de un adenocarcinoma. Masas o grupos celulares organizando luces glanduloides, que ofrecen inmunotinción positiva para marcadores epiteliales (PAP. Citoqueratinas AE1-AE3 \times 200).

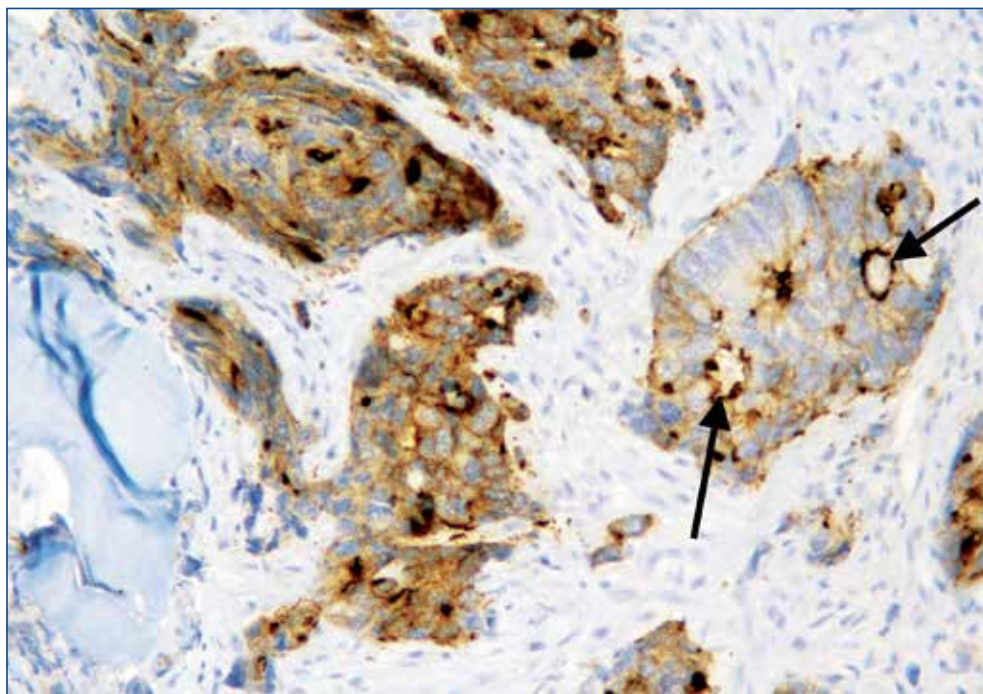


Figura 22. Inmunotinción positiva en nidos tumorales, particularmente en torno a microluces de glándulas neoplásicas (flechas). Metástasis de adenocarcinoma intestinal (PAP. Villina $\times 400$).

por déficit de enzimas lisosomales, con el consiguiente acúmulo en el citoplasma de los macrófagos de metabolitos de tipo glicolípidos o glicoproteínas. Sistemáticamente, estos procesos afectan a la MO, por lo que son susceptibles al diagnóstico mediante aspirado o BMO. Entre ellos destacaremos los que se detallan a continuación.

3.3.1.1. Enfermedad de Gaucher

Es la más prevalente enfermedad lisosomal, condición patológica transmitida de forma autosómica recesiva (muy común entre judíos askenazíes), por déficit de la enzima glucocerebrosidasa que cataboliza glucocerebrósidos. En biopsia se aprecian placas o acúmulos

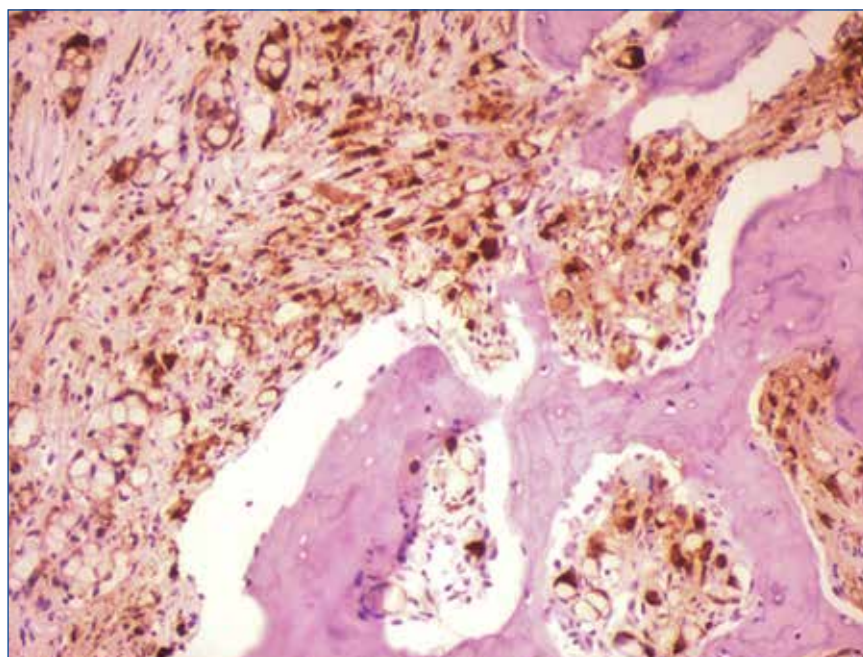


Figura 23. Metástasis medular ósea de un carcinoma de células en "anillo de sello". Grupos o elementos celulares invadiendo celdillas medulares con inmunotinción positiva para citoqueratina (PAP. Citoqueratinas AE1-AE3 $\times 200$).

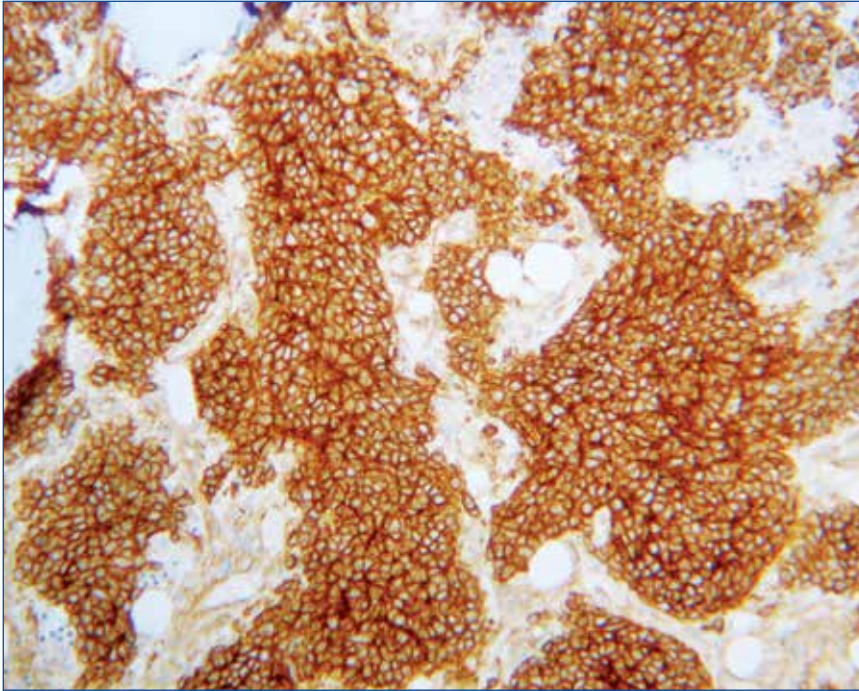


Figura 24. Masas y nidos de células tumorales con inmunotinción citoplasmática positiva en metástasis por tumor de Ewing (PAP. CD99 \times 200).

que reemplazan a la MO por agregados de histiocitos de citoplasma pálido y amplio, con características estriaciones o pliegues que le confieren aspecto en “papel de fumar” (célula de Gaucher). A esta reacción histiocitaria se asocia fibrosis reticulínica y colágena. Hay que tener en cuenta la presencia de células “pseudogaucher”, que aparecen en MO secundarias a

diferentes trastornos hematológicos como leucemias agudas o granulocíticas crónicas, talasemias, anemias, linfomas, sida y mieloma (**Figura 37**). Por ello, antes de emitir un diagnóstico de enfermedad de Gaucher no solo hay que recabar criterios citomorfológicos mediante BMO, sino que se requiere confirmación en leucocitos de sangre periférica de actividad β -glucosidasa.

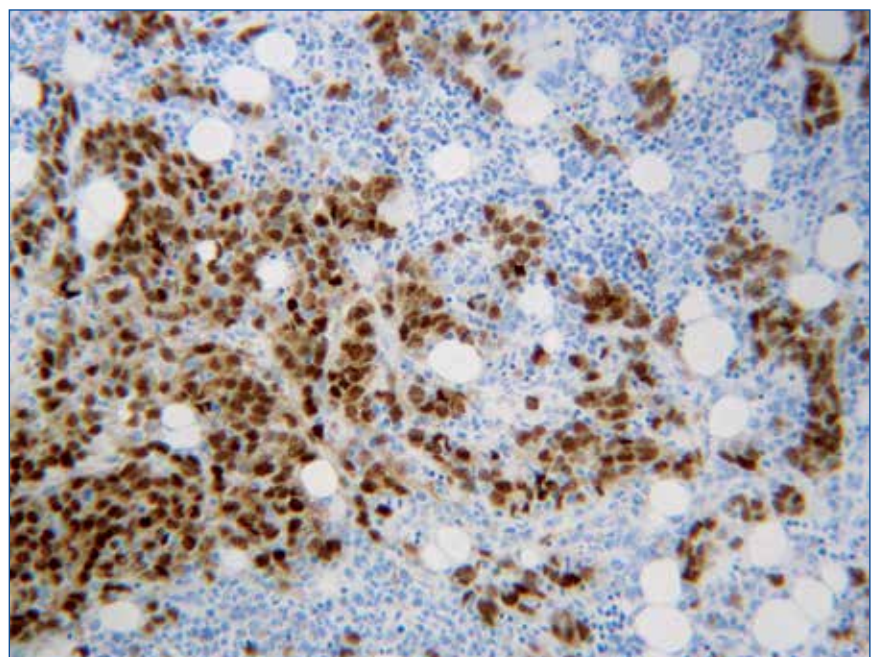
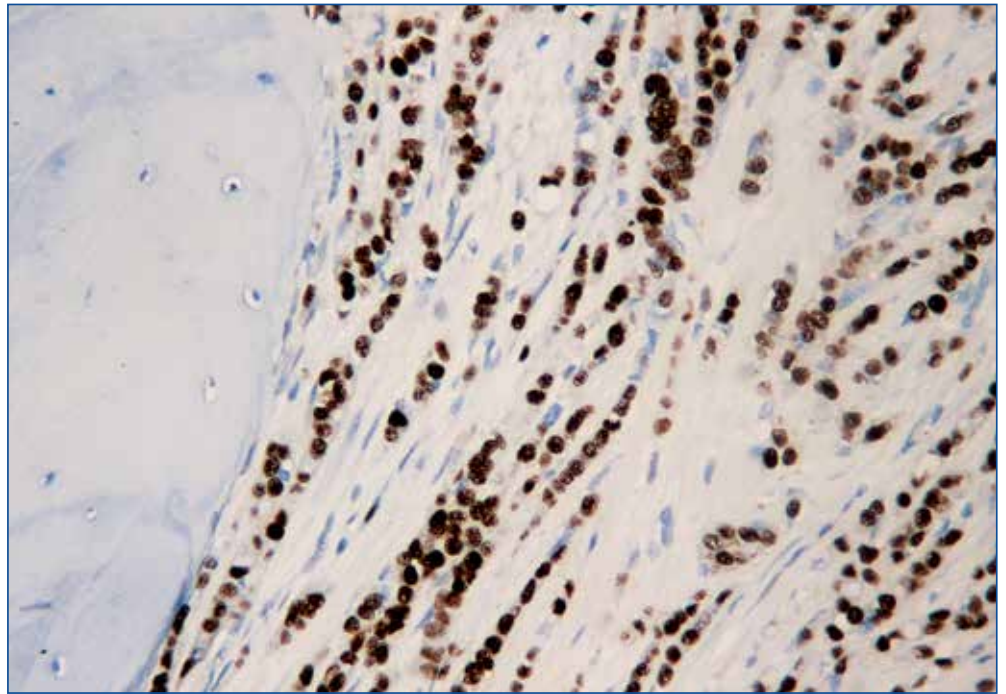


Figura 25. Médula ósea con grupos de células tumorales con inmunotinción nuclear positiva en una metástasis de rhabdiosarcoma embrionario (PAP. Miogenina \times 200).

Figura 26. Metástasis de un carcinoma lobulillar de mama (células distribuidas en “fila india”), cuyas células ofrecen inmunotinción nuclear positiva para receptores de estrógenos (RE) (PAP. RE $\times 400$).



3.3.1.2. Enfermedad de Niemann-Pick

Enfermedad genética con transmisión autosómica recesiva, caracterizada por deficiencia lisosomal de esfingomielinasa (tipo I) o un relativo defecto de esterificación del colesterol (tipo II). En BMO se observan pequeños agregados dispersos de macrófagos grandes, microvacuolados y de aspecto espumoso,

sumándose histiocitos con pigmento pardo dorado (ceroide) que se tiñen de color azul verdoso por la tinción de Giemsa (“histiocitos azul marino”)⁽²²⁾ (Figura 38). Dicho pigmento es también autofluorescente y PAS positivo. En el diagnóstico diferencial con la enfermedad de Niemann-Pick entran otras enfermedades por depósitos de lípidos en histiocitos, que en la MO se trata de HCL, hipercoleste-

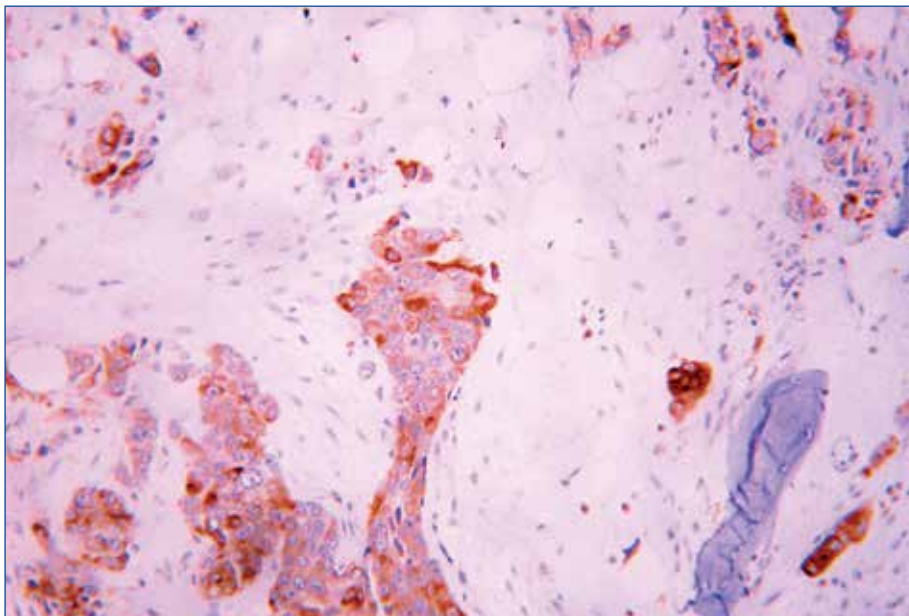
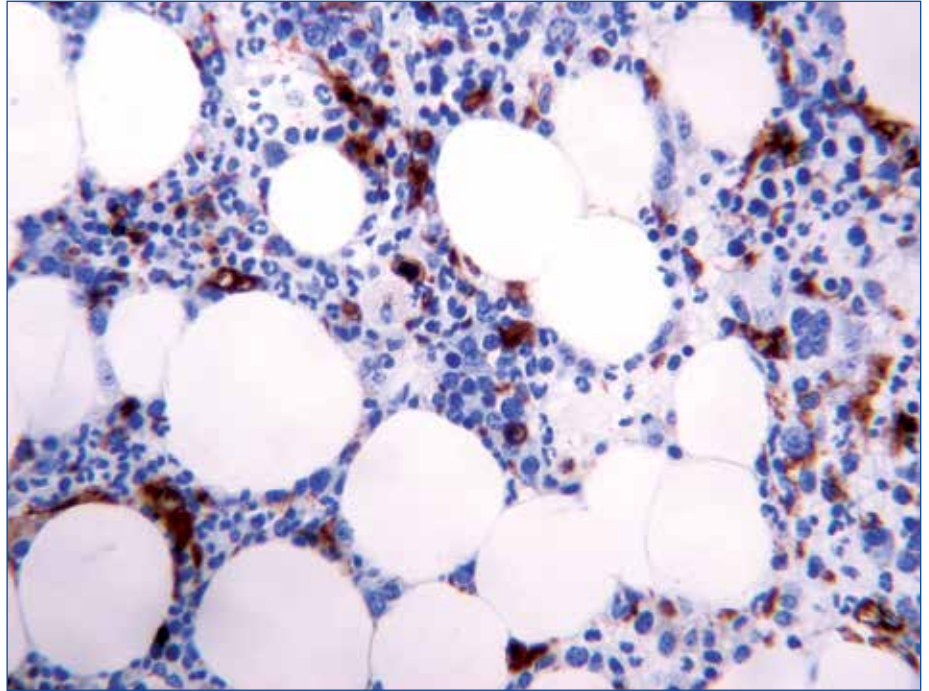


Figura 27. Metástasis de un carcinoma prostático. Celdillas medulares invadidas por células tumorales que muestran positividad citoplasmática para el antígeno prostático específico (PSA) (PAP. PSA $\times 100$).

Figura 28. En el intersticio medular se advierten células con inmunotinción positiva para marcadores de histiocitos, que ofrecen contornos angulosos o morfología estrellada (PAP. CD68 $\times 100$).



roleurias y enfermedades de Fabry, de Tangier y de Wolman, entre otras.

3.3.2. Trastornos de depósito adquiridos

Constituyen una serie de entidades patológicas secundarias a la introducción en el organismo de

productos usualmente orgánicos, que no pueden ser disgregados o metabolizados por los histiocitos. Los hallazgos microscópicos en estas células pueden ser similares a los de los trastornos de depósito de tipo constitucional, aunque no son hereditarios y las causas dependen de condiciones no neoplásicas o neoplásicas, algunas de las cuales se reflejan en la [Tabla 11](#).

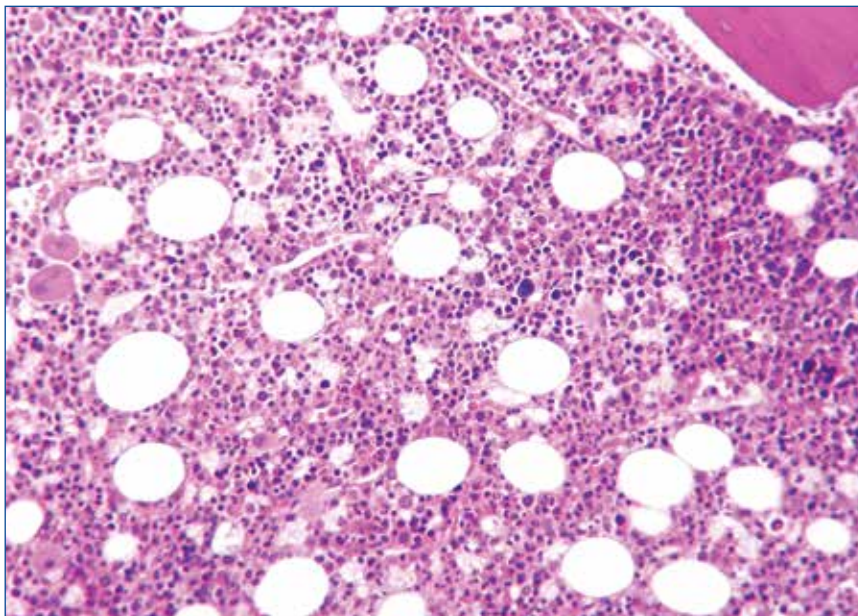


Figura 29. Espacio medular con abundantes células dispersas de citoplasma amplio y claro, correspondientes a histiocitos con actividad fagocítica (HE $\times 200$).

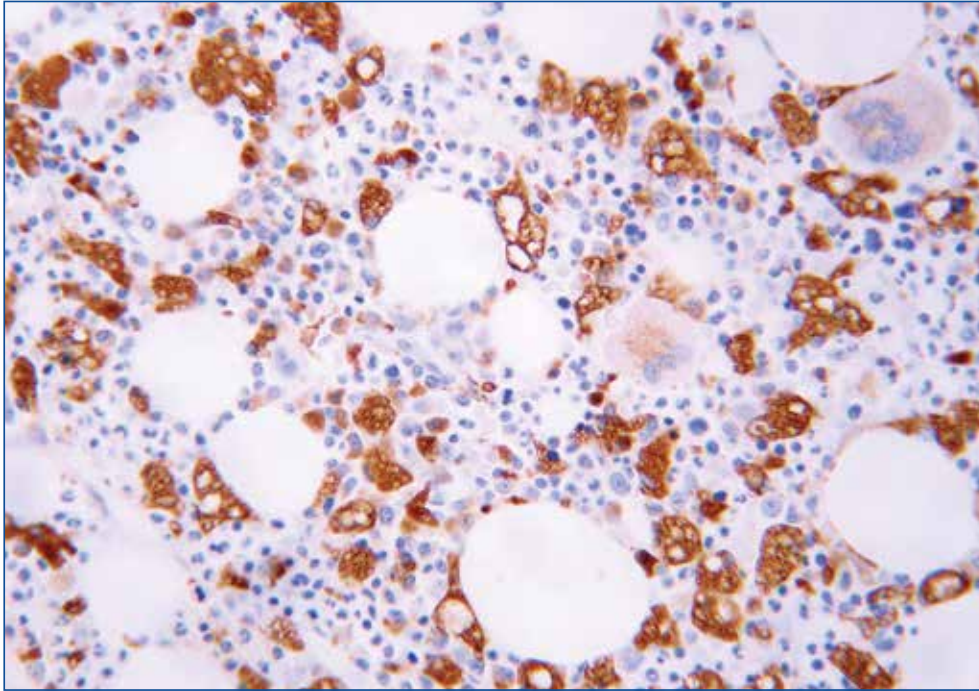


Figura 30. Abundantes macrófagos agrandados y microvacuolados que ofrecen inmunotinción positiva para marcadores histiocitarios, en un caso de histiocitosis (PAP. CD68 \times 400).

4. Patología del sistema mononuclear fagocítico: granulomas

Se entiende por granuloma una particular inflamación crónica resultante de la formación de agregados compactos o cohesivos de macrófagos o fagocitos mononucleares, que provienen de monocitos sanguíneos o de histiocitos residentes del territorio o tejido inflamado. Se trata de lesiones pequeñas o milimétricas que, por coalescencia o fusión, pueden alcanzar gran tamaño o masa, lo que indujo a que inicialmente se denominaran “granulomas”; a semejanza de un tejido de granulación o gránulo de aspecto tumoral (sufijo *oma* = tumor)^(2,23).

En la MO los granulomas son infrecuentes, constituyendo entre el 0,3 y el 2,2% de los casos de biopsias, aunque son relativamente frecuentes en casos de fiebre de origen desconocido⁽²³⁻²⁶⁾, respondiendo generalmente a una manifestación sistémica de un proceso patológico⁽¹³⁾. Cabe señalar que el rendimiento diagnóstico en la detección de granulomas de la biopsia de cilindros de MO es mayor que el del aspirado medular^(27,28).

Existen numerosas clasificaciones de granulomas de la MO, de índole etiológica^(2,24-26). Nosotros planteamos una clasificación fundamentada en cri-

terios no solo etiológicos, sino también morfológicos o patológicos, lo que nos facilitará la agrupación de entidades patológicas y su orientación diagnóstica, en ocasiones de forma precisa, al poderse identificar en los tejidos los agentes causales de la enfermedad (micobacterias, hongos, etc.)⁽²⁷⁾. Para ello, debemos tener en cuenta que un granuloma constituye un acúmulo de histiocitos debidamente activados y modificados por la acción de un agente causal de naturaleza diversa. De este modo, si la lesión granulomatosa se compone fundamentalmente de histiocitos maduros, que desempeñan su habitual función fagocítica, hablamos de “granuloma de histiocitos maduros”. Si la fagocitosis se desarrolla con materiales de naturaleza lipídica, la respuesta es fundamentalmente de histiocitos microvacuolados, de aspecto espumoso (histiocitos xantomatosos), usamos el término “granuloma de histiocitos espumosos”. Si el estímulo patológico es por mecanismos de hipersensibilidad, que provocan la transformación de histiocitos maduros en células epitelioides con menor capacidad fagocítica, lo referimos como “granuloma de histiocitos epitelioides”, donde indistintamente se incluyen granulomas de tipo sarcoidal y tuberculoides (con o sin necrosis caseosa) (Figuras 39 y 40). Por último, reservamos

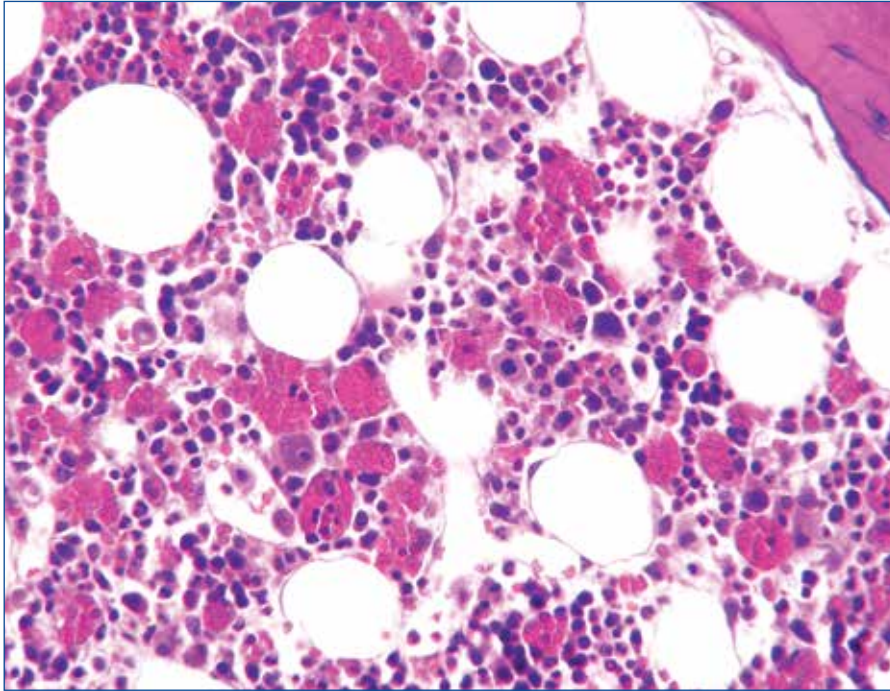


Figura 31. Hemofagocitosis. Abundantes histiocitos con citoplasma repleto de hematíes (HE \times 400).

un apartado para el “granuloma polimorfo”, lesión en la que, de forma relativamente frecuente y en variable cuantía, además de histiocitos (incluso epiteloides) participan otros elementos celulares tales como neutrófilos, linfocitos y eosinófilos, sumándose también exudado fibrinoide. Dentro de esta última categoría está el granuloma con anillo de fibrina (*doughnut*) o granuloma *donut* en anillo, caracteri-

zado por una vacuola lipídica central, rodeada por variable proporción de histiocitos, linfocitos, neutrófilos y eosinófilos, y más periféricamente, por un anillo circundante de fibrina (**Figuras 41 y 42**)^(13,27,29).

La revisión de la literatura correlacionando el tipo de lesión granulomatosa con su etiología nos permite realizar la clasificación de los granulomas en la MO que se presenta en la **Tabla 12**.

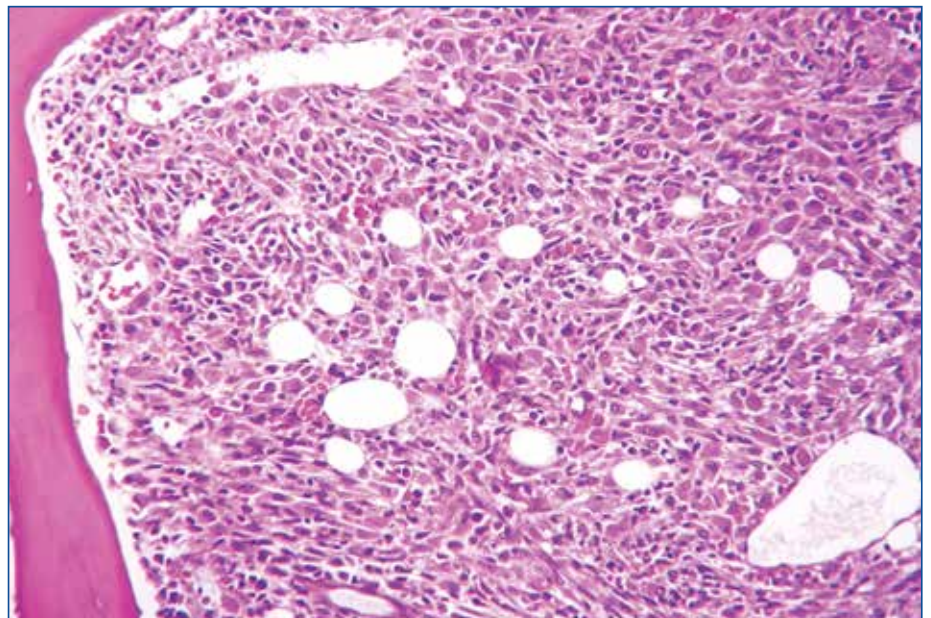


Figura 32. Proliferación histiocitaria neoplásica invadiendo masivamente celdillas medulares óseas (HE \times 100).

Tabla 12. Patología del sistema mononuclear fagocítico II. Granulomas en la médula ósea

I. Granulomas de histiocitos maduros	
• Histiocíticos	<ul style="list-style-type: none"> – Salmonelosis – Leishmaniasis
• Cuerpo extraño	<ul style="list-style-type: none"> – Talco – Partículas de carbón y sílice (mineros)
II. Granulomas de histiocitos espumosos	
• Formas inespecíficas (lipogranulomas)	<ul style="list-style-type: none"> – Linfografía con material oleoso – Plasmocitosis medular – Infarto medular
• Formas específicas	<ul style="list-style-type: none"> – <i>Mycobacterium avium</i> intracelular (MAI) – Lepra lepromatosa
III. Granulomas de histiocitos epitelioides	
• Agentes infecciosos	<ul style="list-style-type: none"> – Bacterianos: brucelosis, tularemia, tuberculosis – Parasitarios: toxoplasmosis – Micóticos: criptococosis, histoplasmosis, blastomicosis, paracoccidioidomicosis – Víricos: Epstein-Barr (VEB), citomegalovirus (CMV)
• Trastornos y neoplasias hematológicas	<ul style="list-style-type: none"> – Linfomas de Hodgkin y no Hodgkin – Mieloma – Trombocitemia esencial, mastocitosis, síndromes mielodisplásicos
• Trastornos autoinmunes/alérgicos	<ul style="list-style-type: none"> – Lupus eritematoso sistémico, cirrosis biliar primaria, enfermedad de Crohn, síndrome de Sjögren, síndrome de Behçet, enfermedad de Mikulicz
• Drogas y tratamientos	<ul style="list-style-type: none"> – Amiodarona, oxifenilbutazona, interferón, interleucina-2
• Sarcoidosis	
• Otros	<ul style="list-style-type: none"> – Beriliosis, carcinoma metastásico (mama, pulmón), sida
IV. Granulomas polimorfos	
• Granulomas con anillo de fibrina (<i>doughnut</i>)	<ul style="list-style-type: none"> – Agentes infecciosos <ul style="list-style-type: none"> - Bacterianos: fiebre Q, brucelosis, salmonelosis, enfermedad de Lyme, MAI - Víricos: VEB, CMV, virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), hepatitis A - Parásitos – Neoplasias: linfomas de Hodgkin y no Hodgkin

La etiología de los granulomas en la MO se establece por una adecuada correlación clinicopatológica y los resultados con técnicas microbiológicas y serológicas. Así, en situaciones de inmunosupresión (sida) pueden resultar de gran valor tinciones especiales para detectar microorganismos tales como hongos (PAS y plata metenamina) y bacilos ácido-alcohol-resistentes (Ziehl-Neelsen)⁽²⁷⁾.

En MO la aparición de granulomas en las distintas patologías ofrece la siguiente distribución porcentual: enfermedades infecciosas (30-38%), trastornos hematológicos (17-25%), sarcoidosis (7-11%), malignidad no hematológica (3,5-10%), reacción a drogas (5-12%), otras enfermedades (6%) y no se consigue llegar a un diagnóstico etiológico en un 6 al 13% de los casos^(24,25).

5. Mastocitosis sistémica

El término MS hace referencia a condiciones patológicas en las que existe una anormal proliferación de mastocitos. Atendiendo a la distribución de las lesiones, se habla de mastocitosis confinadas a la piel o cutáneas (80% de los casos) o de MS (10-20% de los casos), en las que pueden estar afectadas otras estructuras u órganos y entre las que generalmente se encuentra comprometida la MO (en más del 90% de ellas)^(27,30,31). Las mastocitosis cubren un amplio espectro de lesiones que van desde procesos benignos indolentes hasta formas que van asociadas a trastornos hematológicos y a formas agresivas de proliferaciones mastocitarias^(1,2,12,13).

Conviene tener en cuenta que el mastocito procede de una célula mieloide madre de la MO, por lo que las mastocitosis deben incluirse dentro de los trastornos hematológicos, lo que también explica su asociación con hiperplasia o proliferación de otras líneas hematopoyéticas mieloides^(30,31). Microscópicamente, las lesiones consisten en múltiples agregados compactos o cohesivos de mastocitos, de distribución preferentemente focal de tipo paratrabecular y perivascular. Los mastocitos proliferantes suelen mostrar aspecto redondeado o fusiforme (de apariencia fibroblástica), generalmente en un trasfondo de fibrosis reticulínica y coláge-

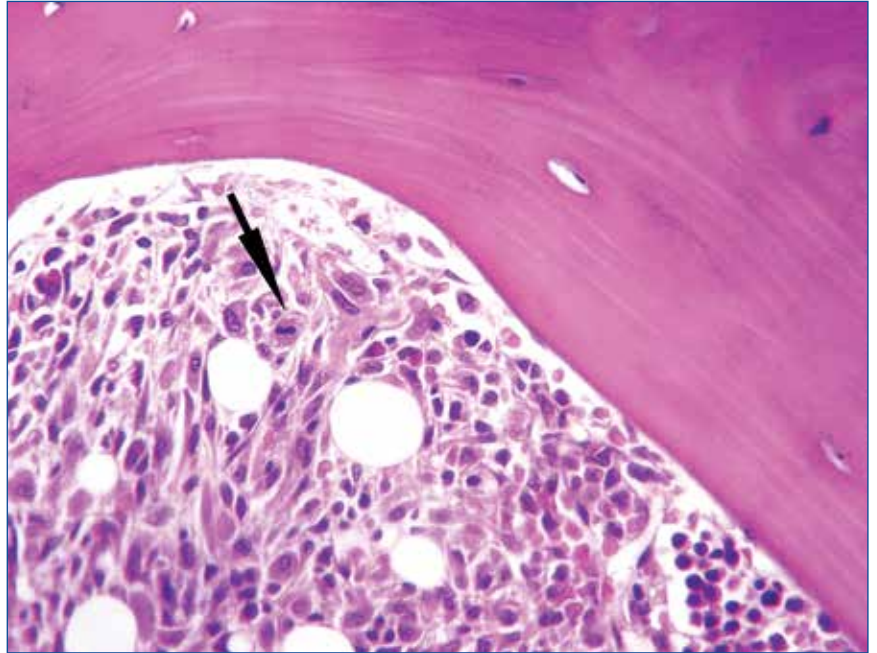


Figura 33. Histiocitos atípicos de gran talla, citoplasma eosinófilo y con actividad mitótica (flecha) (HE \times 400).

na^(12,31). La trama ósea suele presentar signos de osteopenia u osteoesclerosis.

Histoquímicamente, las células suelen mostrar granulaciones citoplasmáticas metacromáticas, purpúricas, en variable cuantía (a veces inaparentes), que se hacen evidentes con la tinción de Giemsa y azul de toluidina. Las células suelen ser bastan-

te monomorfas, sin que se identifiquen mitosis, y cuando hay marcada atipia es más frecuente en formas agresivas de MS o leucemias de mastocitos⁽³¹⁾. Además, se acompañan de variable proporción de linfocitos (incluso organizando nódulos linfoides), eosinófilos, histiocitos, así como de fibroblastos, fibras y estructuras vasculares (Figuras 43 a 46)^(12,30,31).

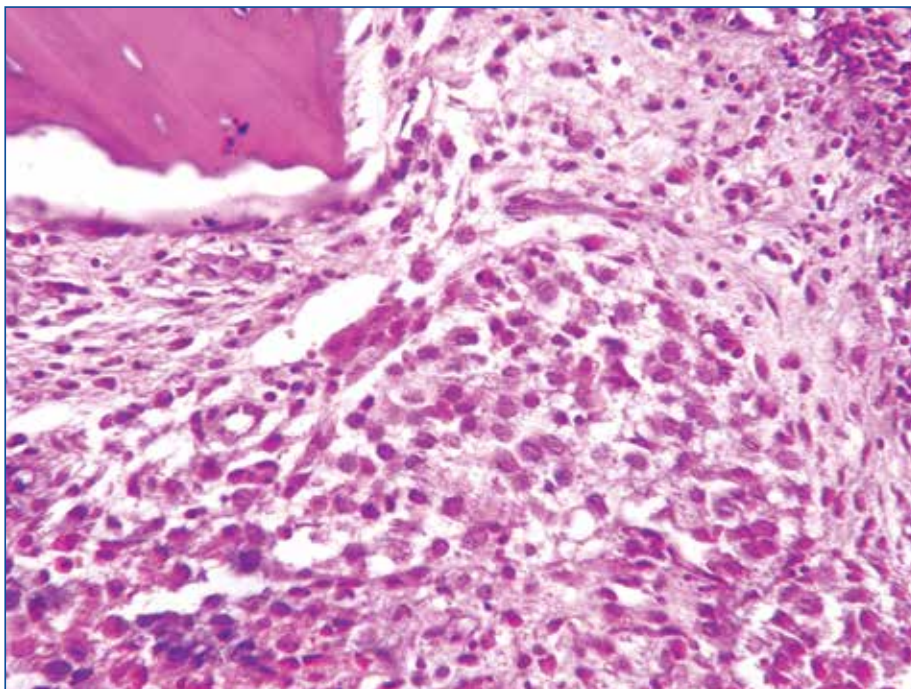


Figura 34. Afectación medular ósea por proliferación histiocitaria con abundantes eosinófilos. Granuloma eosinófilo (HE \times 200).

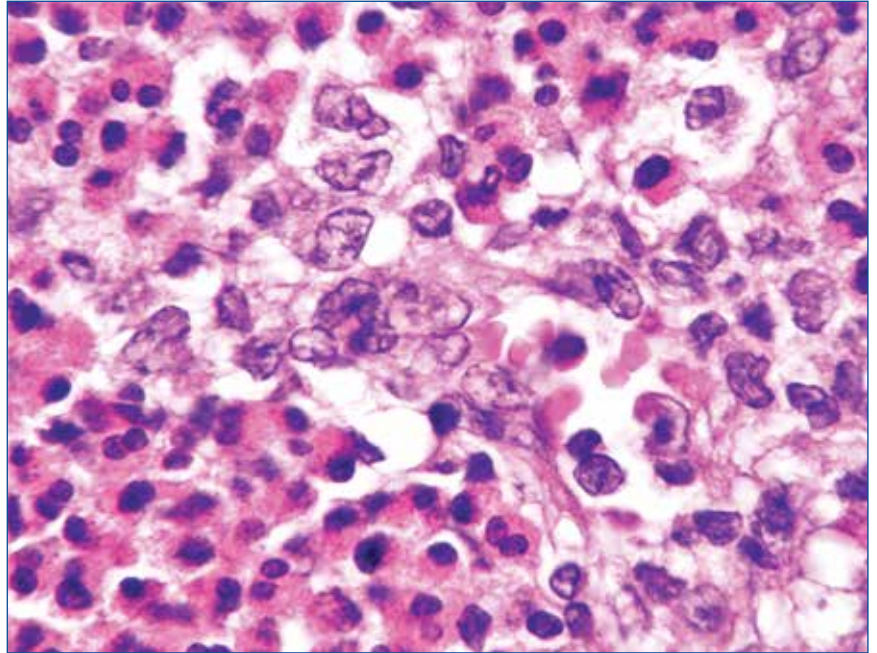


Figura 35. Característicos histiocitos de tipo célula de Langerhans, con núcleos escotados o cerebriformes, junto a numerosos eosinófilos. Granuloma eosinófilo (HE $\times 1.000$).

Inmunohistoquímicamente, las células, de forma característica, ofrecen inmunotinción positiva para el CD117 (c-KIT) (**Figura 47**).

Los hallazgos patológicos son fundamentales para el diagnóstico de MS, aunque la Organización Mundial de la Salud (OMS) requiere, a las características microscópicas de la biopsia, la suma de datos analíticos y genéticos. Para emitir el diagnóstico de MS y como exclusivo criterio mayor, la detección en médula

de agregados compactos de mastocitos (≥ 15 células), sumado a un criterio menor de los 4 siguientes: 1) más del 25% de los mastocitos de la lesión son inmaduros y fusiformes; 2) detección en tejido o sangre de la mutación de *KIT* D8 16V; 3) aberrante expresión de CD2 y CD25 en mastocitos; y 4) persistente elevación de la triptasa sérica (> 20 ng/mL)^(30,31).

Lo proteiforme del cuadro microscópico de la mastocitosis en MO plantea diagnóstico diferencial

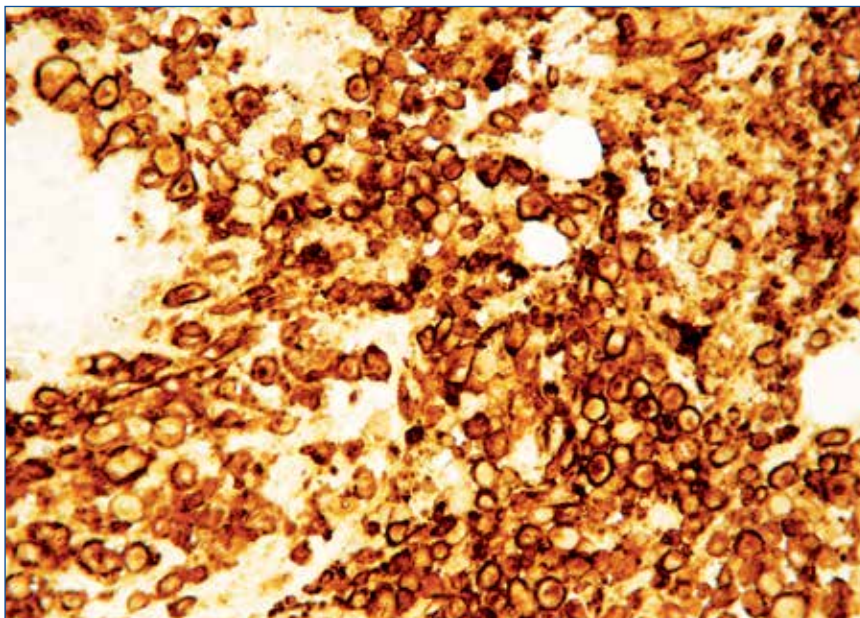


Figura 36. Patrón de inmunotinción positiva de membrana y citoplasma para el CD1a en células de Langerhans. Granuloma eosinófilo (PAP. CD1a $\times 200$).

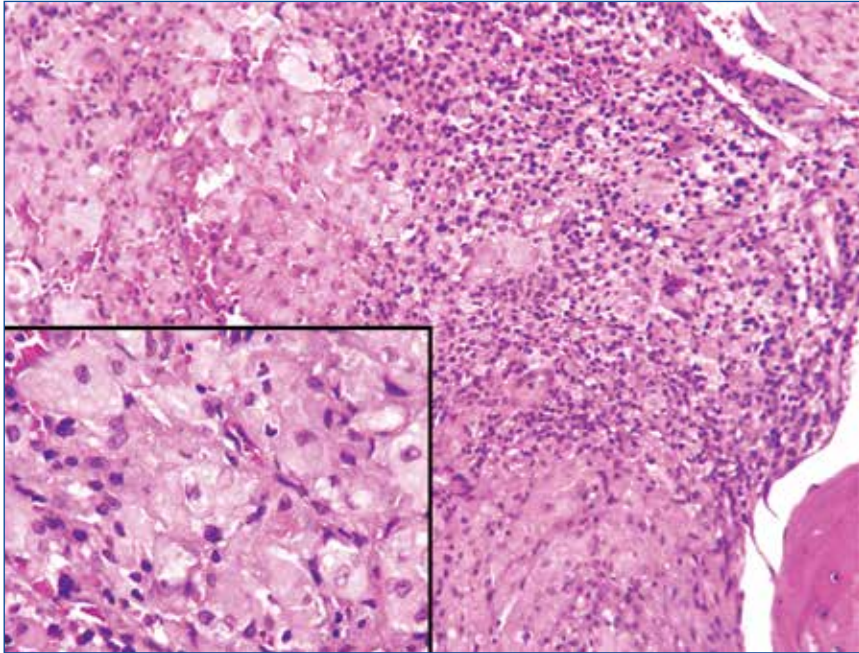


Figura 37. Células “pseudogaucher” en médula ósea en un caso de mieloma (HE \times 200).

con diversas entidades, entre las que se encuentran:

- Patología fibrogénica, como mielofibrosis, en casos en que la afectación sea difusa, aunque no se detectan las alteraciones megacariocíticas propias de la misma.
- Linfadenopatía angioinmunoblástica, en la que destaca la prominente proliferación vascular con abundantes plasmocitos.

- Linfoma, en casos de mastocitosis con abundantes acúmulos linfoides, aunque en estos los infiltrados son de linfocitos T y B.

- Otros posibles cuadros que simulan a la mastocitosis corresponden a leucemias promielocíticas, leucemia mastocítica, leucemia mieloide aguda trip-tasa (+), granulomas y lesiones fibrohistiocitarias eosinofílicas de la MO.

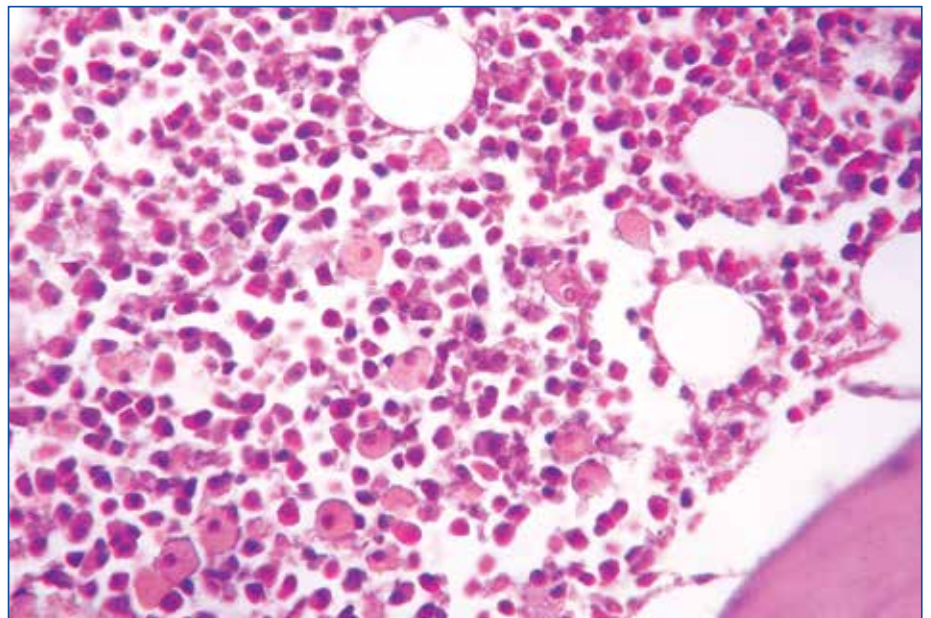


Figura 38. Infiltración medular ósea por histiocitos voluminosos con pigmento ceroide de color marrón, en un caso de síndrome del histiocito “azul marino” por enfermedad de Niemann-Pick de tipo II (HE \times 200).

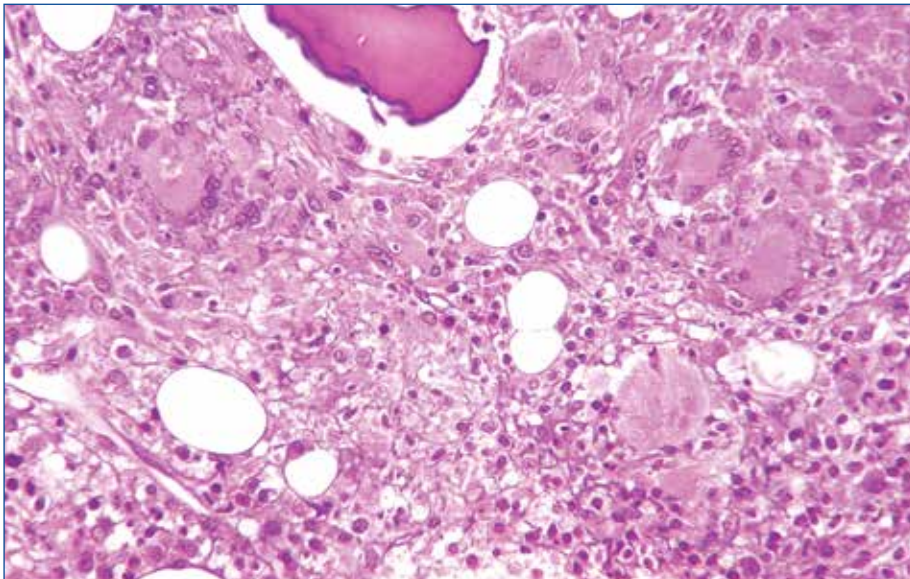


Figura 39. En celdilla ósea medular se observan granulomas epitelioides con células gigantes multinucleadas de "tipo sarcoidal" (HE \times 200).

6. Infección por virus de la inmunodeficiencia humana

Los hallazgos patológicos en la MO son heterogéneos y polimorfos, con variaciones según el momento evolutivo del proceso. De este modo, en los momentos iniciales de la enfermedad es frecuente la hiperplasia hematopoyética de tipo reactivo, así como cambios displásicos de las 3 series, con metamielocitos gigantes y megacariocitos anormales en agregados, que pueden ofrecer nú-

cleos hipolobulados o desnudos^(27,32). También se suma plasmocitosis policlonal (puede simular un cuadro de discrasia de células plasmáticas) y diseritropoyesis con megaloblastosis, mientras que en el intersticio hay fibrosis reticulínica (posiblemente inducida por la infección) y hemosiderosis^(27,32-34) (**Figuras 48 y 49**). Es más infrecuente la hipocelularidad y aplasia de la serie roja, más propia en relación con pérdida de peso del paciente y evolución caquectizante de la enfermedad, estando también presente la degeneración mucinosa de

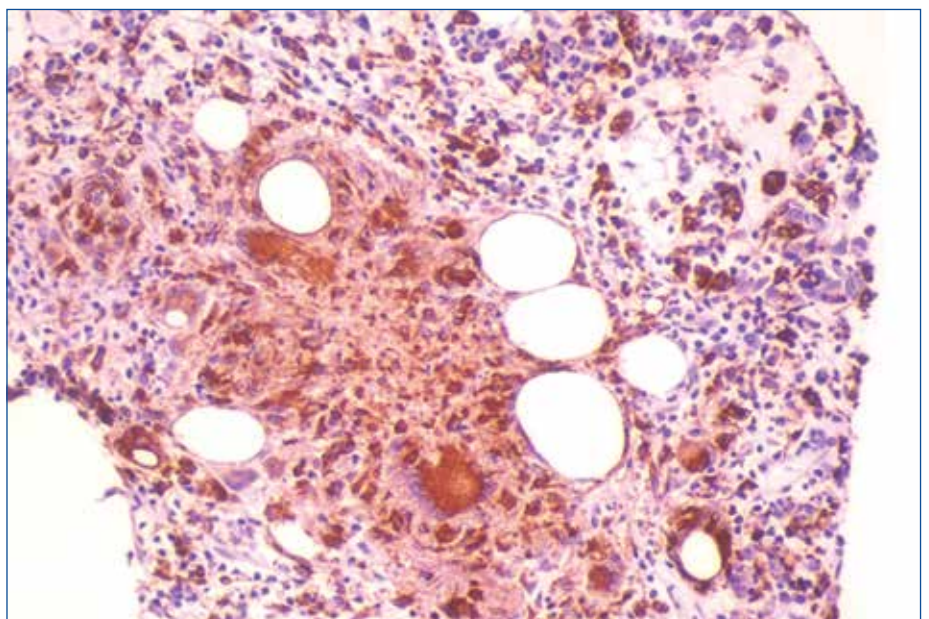


Figura 40. Células de granulomas de "tipo sarcoidal" con inmunotinción positiva para marcadores histiocitarios (PAP. CD68 \times 200).

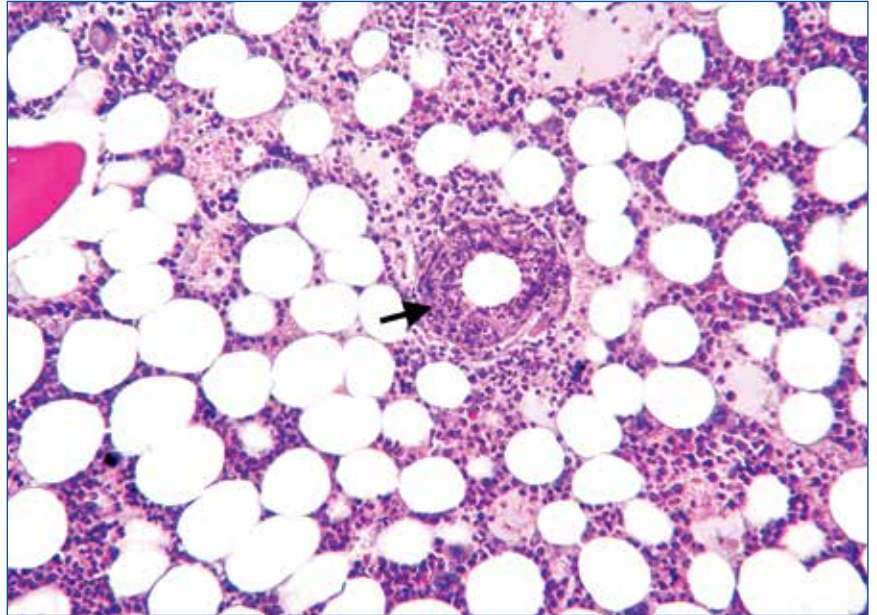


Figura 41. En el centro de la imagen se observa un granuloma en *donut* o en anillo (flecha) (HE $\times 100$).

la médula⁽²⁷⁾. Son relativamente frecuentes los agregados linfoides, incluso de distribución paratrabecular, lo que junto con la transformación de células linfoides en inmunoblastos hace pensar en síndrome linfoproliferativo. De aquí la importancia de conocer el precedente de la enfermedad, junto al correlato morfológico de la médula, con posibilidad de sobreañadirse granulomas (particularmente por *Mycobacterium avium intracellulare*), células pseudogaucher, histiocitosis hemofagocítica

ca e incluso linfomas de alto grado (B no Hodgkin y Hodgkin clásico), entre otros^(1,2,35).

7. Mielopatía reactiva inespecífica

En diversas situaciones, principalmente en estados inflamatorios y en el cáncer, se presentan cambios inespecíficos en la MO, caracterizados por modificaciones de su composición celular. Esta situación

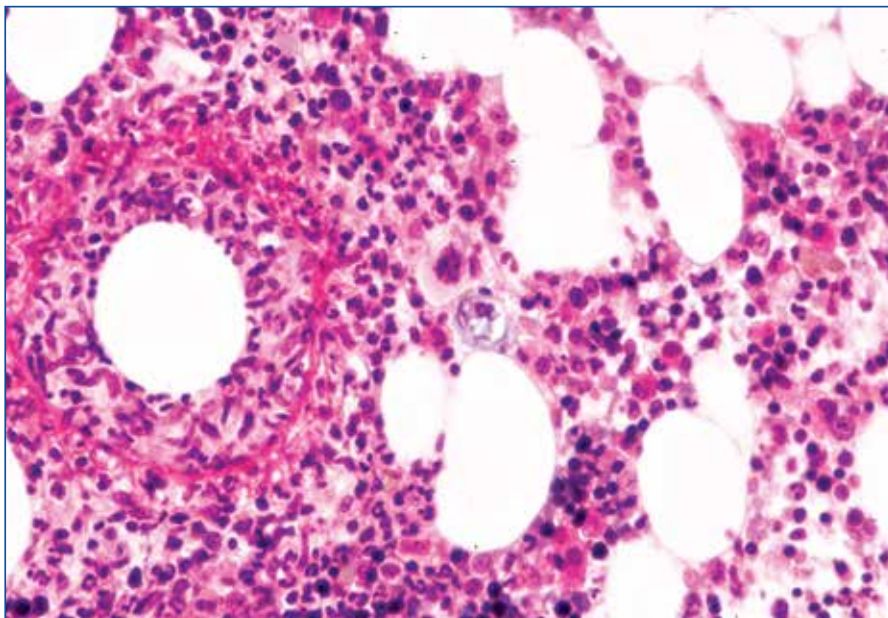


Figura 42. Granuloma con anillo de fibrina periférico (de color rojo). Vacuola lipídica central (Tricrómico de Masson $\times 200$).

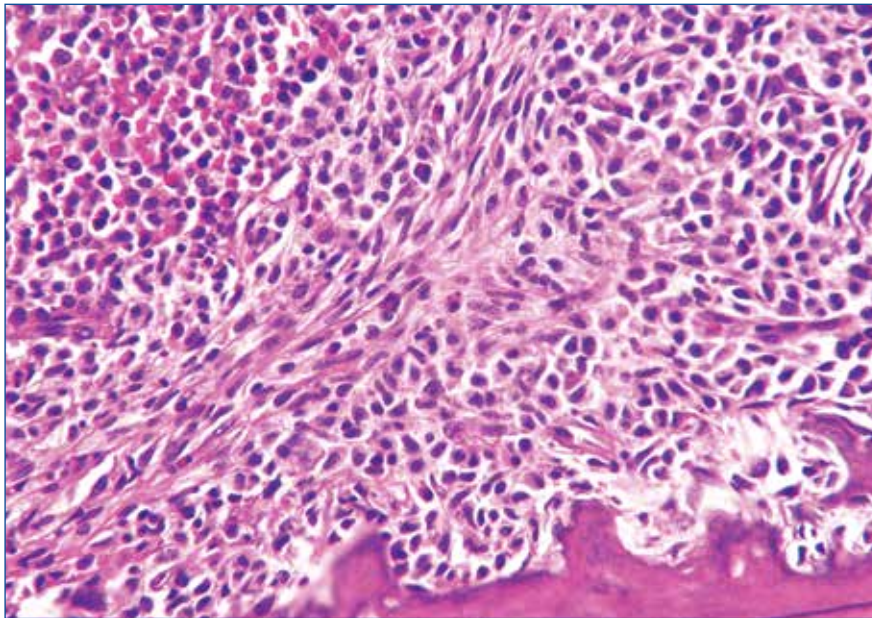


Figura 43. Infiltrado peritrabecular por mastocitos redondos o ahusados, en un caso de mastocitosis sistémica (HE $\times 200$).

ha recibido los nombres de mielitis reactiva, mielitis inespecífica, mielopatía reactiva inespecífica, mielopatía inespecífica, mielopatía tumoral, mielopatía inespecífica tumoral, síndrome de irritación tumoral, reacciones estromales, etc.^(14,36-39). Las situaciones en las que hay más oportunidad de observarla son los tumores malignos, bien sean linfomas o tumores sólidos, y entre los primeros es especial-

mente llamativa en el linfoma de Hodgkin (LH). Dichos cambios pueden presentarse tanto en BMO afecta como en médulas exentas de localización tumoral y, en general, se aprecian mejor en estas últimas, pues la ausencia de lesiones específicas facilita su apreciación.

Los rasgos más frecuentes consisten en hiper-celularidad global, con distintos grados de intensi-

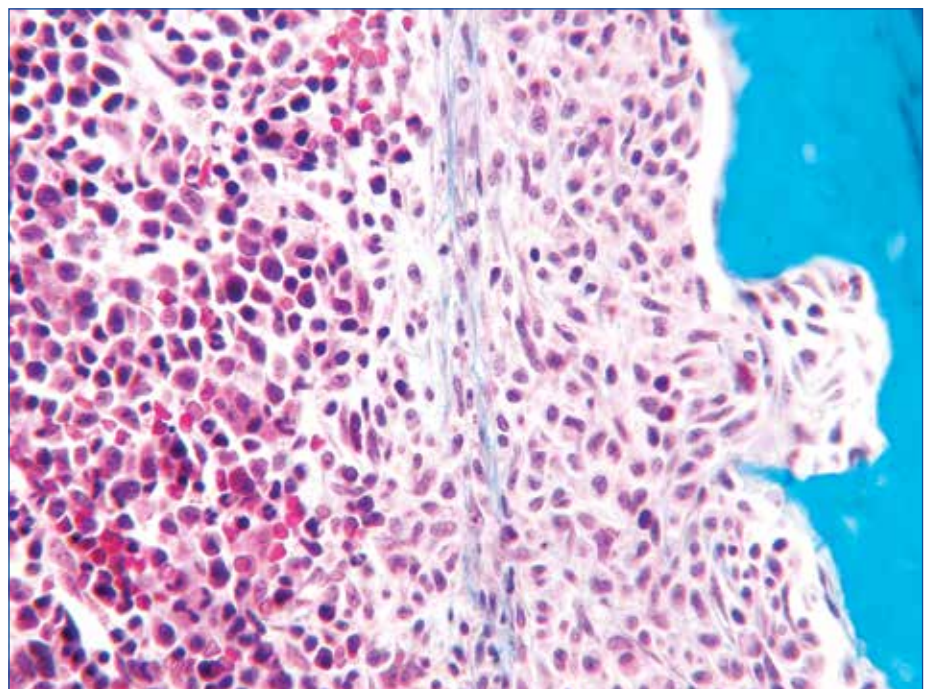


Figura 44. Fibrosis con fibras de colágena en un infiltrado mastocitario. Mastocitosis sistémica (Tricrómico de Masson $\times 200$).



Figura 45. Granulaciones metacromáticas (violáceas) en el citoplasma de mastocitos, en un caso de mastocitosis sistémica (Giemsa $\times 1.000$).

dad, proliferación megacariocítica, neutrofilia, eosinofilia, plasmocitosis, aumento de macrófagos o monocitos y más raramente fibrosis, que puede estar o no relacionada con el aumento de celularidad. También podemos considerar la presencia de granulomas epitelioides como una forma de mielopatía inespecífica en el LH⁽⁴⁰⁾. En nuestra experiencia, la alteración más habitual es la eosinofilia (**Figuras 50**

a 52). En algunos casos (más habitualmente en LH) estas lesiones inespecíficas son suficientemente notables para evocar un cuadro mieloproliferativo (parecido a la leucemia mieloide crónica), que en sangre se presenta exclusivamente con neutrofilia y eosinofilia, pero sin mielema.

Podríamos también considerar como mielopatía inespecífica los frecuentes hallazgos de hiperplasia

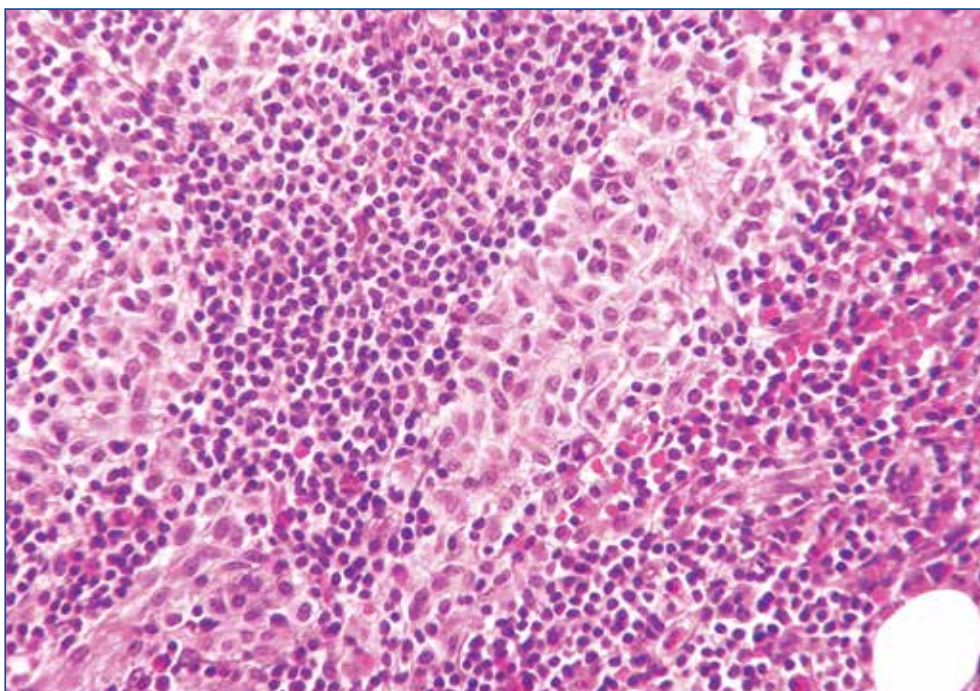


Figura 46. Mastocitosis sistémica: agregados de mastocitos de apariencia granulomatosa, acompañados de abundantes linfocitos reactivos (HE $\times 200$).

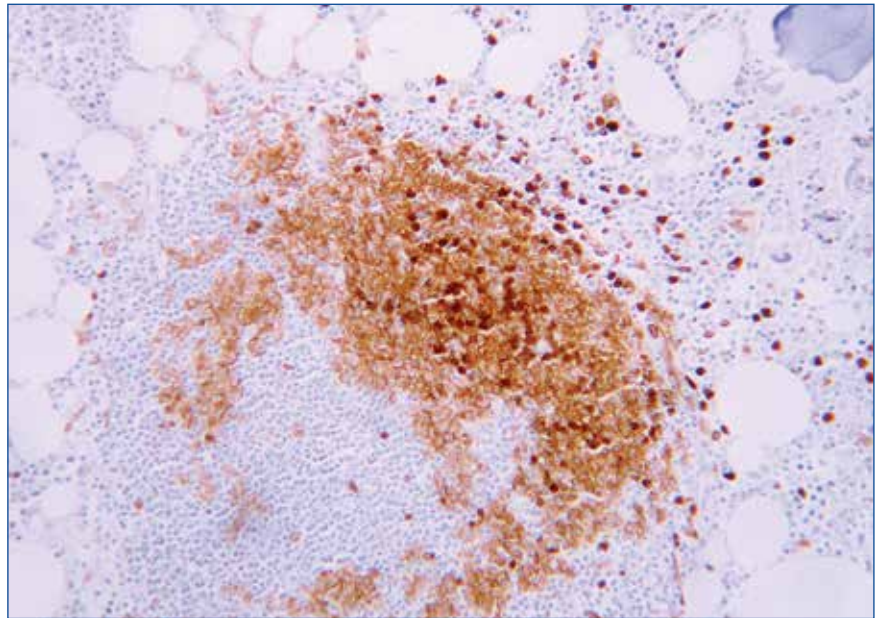


Figura 47. Infiltrado de mastocitos positivo para el marcador c-KIT (PAP, CD117 $\times 100$).

nodular linfoide en MO de procesos fundamentalmente inflamatorios o autoinmunes (artritis reumatoide), en la infección por VIH y por citomegalovirus⁽⁴¹⁾ o en la MS; en estos casos, además de las características morfológicas propias de linfomas (véase el capítulo 10), los marcadores de clonalidad específicos por IHQ y/o PCR. Más recientemente se ha demostrado mediante una amplia batería de

marcadores IHQ y PCR para clonalidad B o T que la frecuente linfocitosis focal que puede observarse en la MS y que remeda a veces un verdadero linfoma coexistente es en realidad reactiva⁽⁴²⁾.

En cuanto al significado clínico de la mielopatía inespecífica tumoral, nuestro grupo en 1990 efectuó un estudio histomorfométrico en biopsias no específicamente afectas de pacientes con linfoma

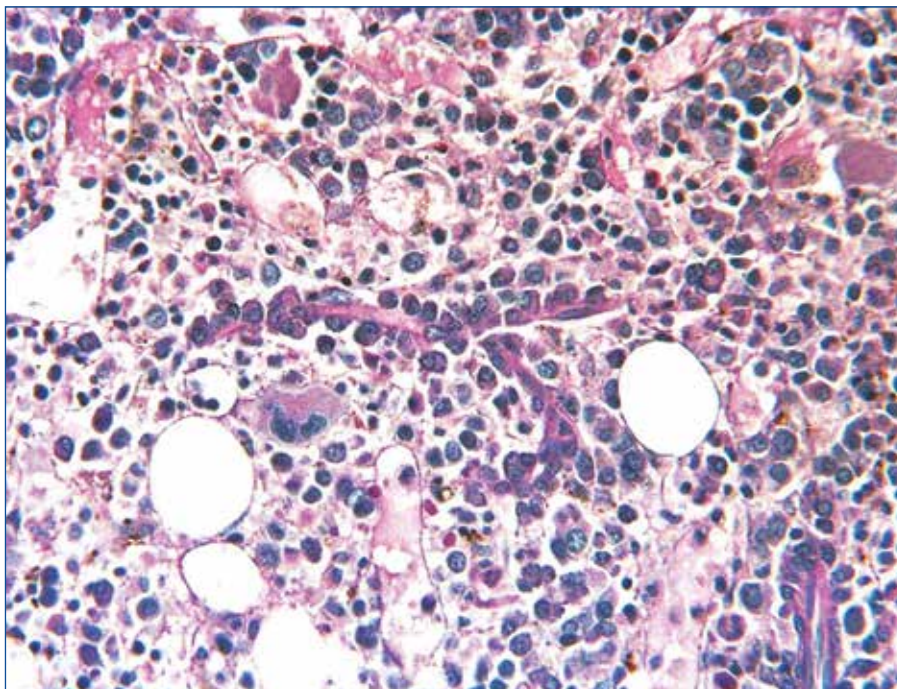


Figura 48. Médula ósea en infección por virus de la inmunodeficiencia humana. Importantes grupos de plasmocitos perivasculares e hiperplasia/ectasia sinusoidal (Tricrómico de Masson $\times 200$).

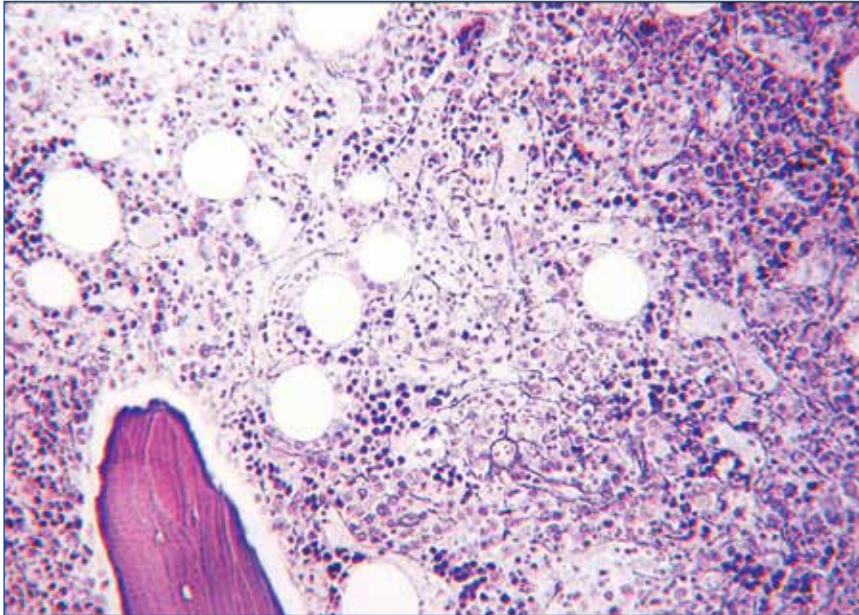


Figura 49. Médula ósea en infección por virus de la inmunodeficiencia humana. Aumento moderado de fibras de reticulina (Reticulina de Wilder $\times 100$).

no Hodgkin (LNH), LH, neoplasias sólidas y un grupo control de voluntarios sanos⁽⁴³⁾. Asimismo, se procedió a una lectura subjetiva de mielopatía inespecífica. El estudio comparativo de los 3 grupos patológicos mostró diferencias en la celularidad global ($p < 0,001$), debidas fundamentalmente a la existente entre las neoplasias no hematológicas y el grupo global de linfomas (más hiper celular este último).

Ninguna de las variables recogidas por apreciación subjetiva demostró poseer valor pronóstico; sin embargo, el análisis multivariado de los datos histomorfométricos demostró que el número de megacariocitos y de células plasmáticas por mm^2 poseía valor pronóstico peyorativo (más células, peor pronóstico) y, al desglosar estos datos por grupos, solo resultó estadísticamente significativo el número de

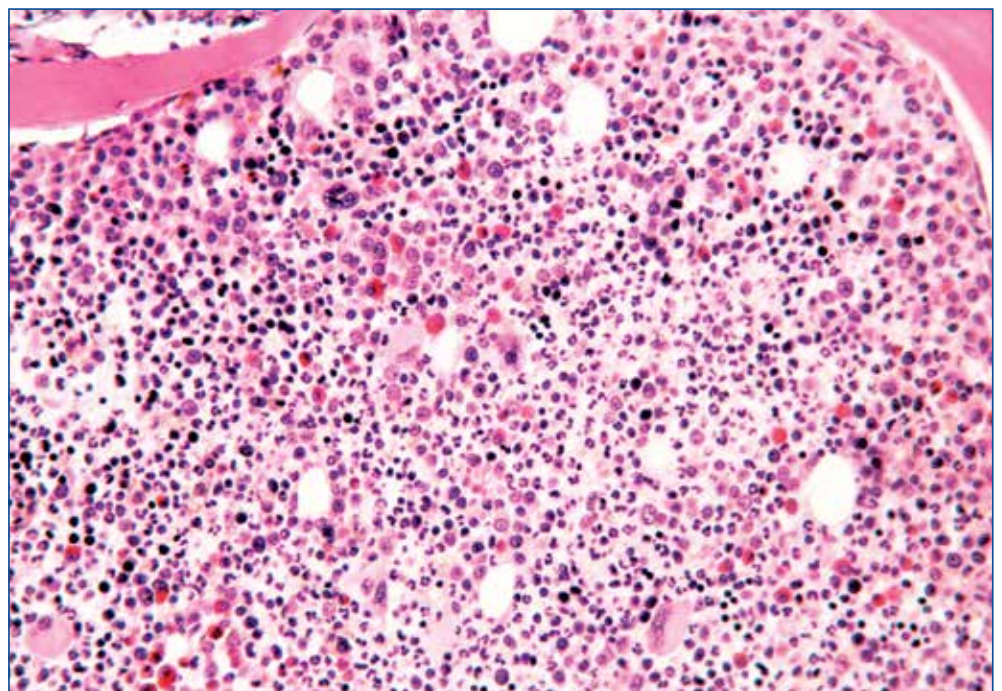


Figura 50. Mielopatía inespecífica tumoral: hiper celularidad y neutrofilia generalizada, así como eosinofilia y megacariocitosis focal (HE $\times 100$).

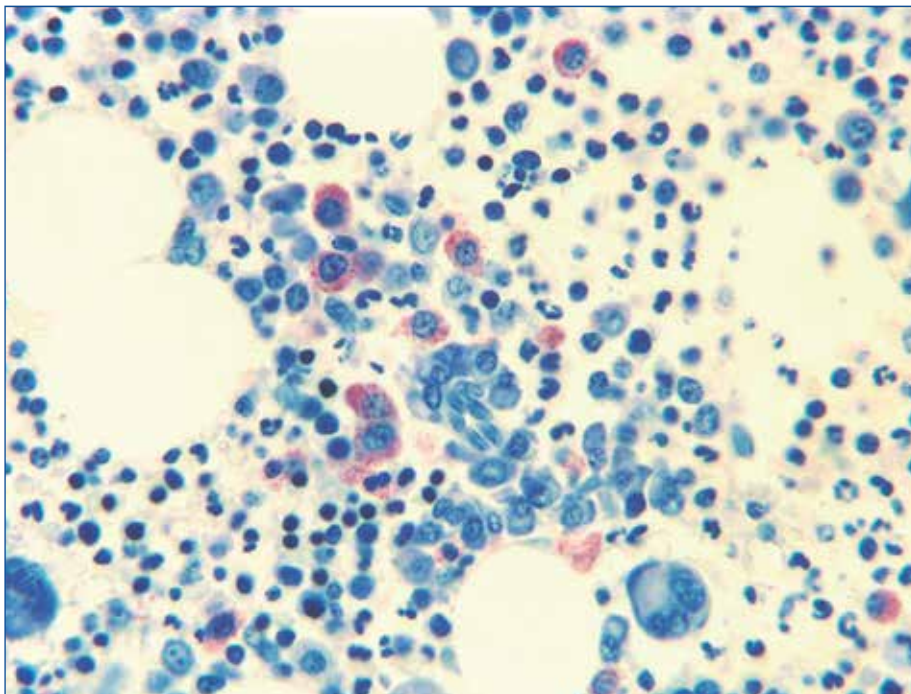


Figura 51. Mielopatía inespecífica: neutrofilia, eosinofilia y plasmocitosis (Giemsa $\times 400$).

megacariocitos en los LNH. Los casos analizados de LH fueron escasos, por lo que no se pudo obtener una conclusión. Una vez demostrada la importancia de la mielopatía inespecífica, se construyó un *score* que fuese fácil de aplicar en la práctica habitual. Este sistema de puntuación utilizaba la apreciación se-

miobjetiva de la fibrosis y la subjetiva de la megacariocitosis, la plasmocitosis y el conjunto de la eosinofilia y neutrofilia (factores que tuvieron mayor peso estadístico en el análisis multivariado). Además, se construyó un sistema de puntuación que otorgaba puntos a la fibrosis, la megacariocitosis, la plasmoci-

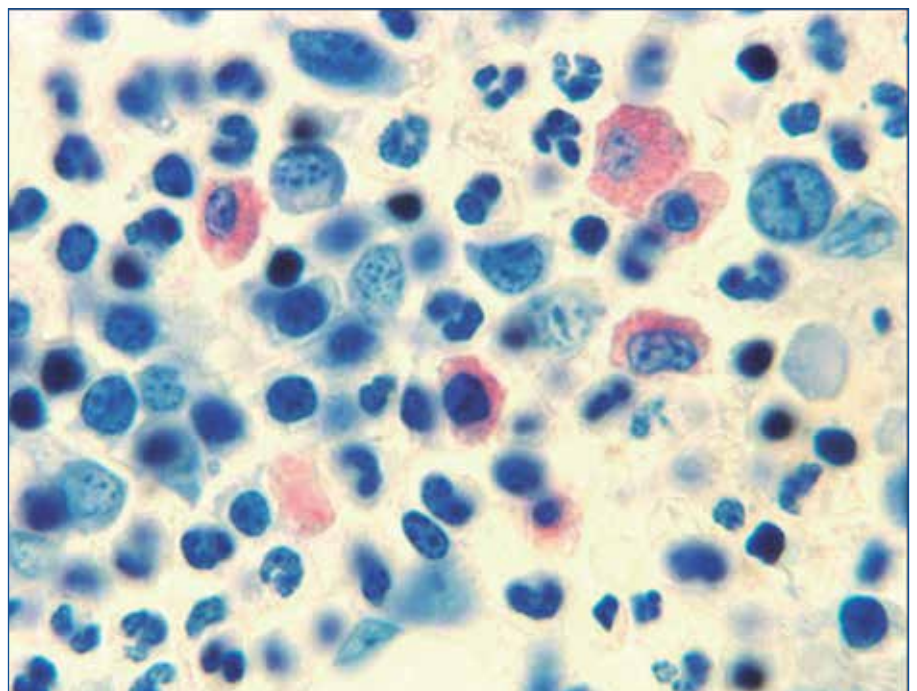
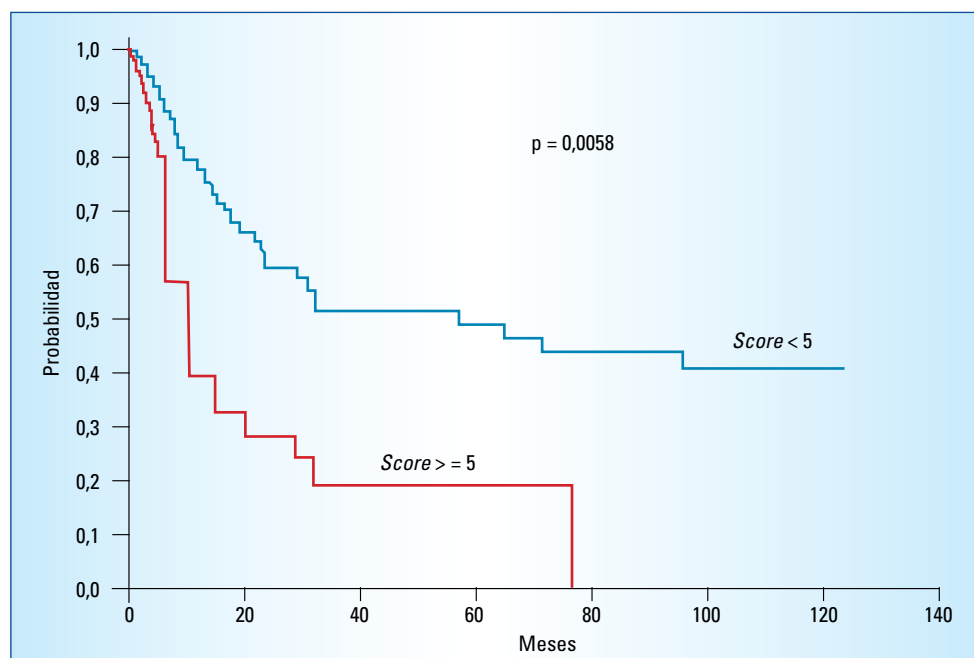


Figura 52. Mielopatía inespecífica tumoral: detalle en el que se observa neutrofilia y eosinofilia (Giemsa $\times 1.000$).

Figura 53. Significado pronóstico del valor obtenido en un sistema de puntuación de mielopatía inespecífica tumoral en pacientes con linfomas y neoplasias no hematológicas⁽⁴²⁾.



tosis y el conjunto de la eosinofilia y neutrofilia (factores que dan mayor peso estadístico en el análisis multivariado). El análisis de la supervivencia de todos los casos (LNH, LH y otras neoplasias) según este *score* no solo demostró su significado pronóstico, sino que fue el mejor factor pronóstico independiente⁽⁴⁴⁾ (Figura 53). Aunque estos hallazgos son altamente sugestivos de que la mielopatía inespecífica en algunos de sus aspectos debe ser tenida en consideración, probablemente se precisan otros estudios que confirmen estos hallazgos. De ser así, se podría recomendar la biopsia medular en los casos negativos para afectación medular en tomografía por emisión de positrones/tomografía computarizada (PET/TC) o resonancia magnética (RM), dado su interés pronóstico.

A efectos prácticos, debe considerarse que la mielopatía inespecífica tumoral es muy frecuente en estas situaciones, su lectura debe ser apreciativa, probablemente indica enfermedad activa o defensa del organismo frente a ella y, aunque de trascendencia discutible, al menos debe ser registrada como una manifestación más de la enfermedad. De hecho, a veces la lectura a ciegas de una biopsia con intensa mielopatía inespecífica, especialmente con neutrofilia y eosinofilia, permite adelantar que la enfermedad de base pueda ser un LH.

8. Bibliografía

1. Brunning RD, McKenna RW. Tumors of the bone marrow. Atlas of Tumor Pathology (Fasc. 9). 3.^a ser. Washington: AFIP; 1994.
2. Bain BJ, Clarck DM, Lampert IV, Wilkins BS. Bone marrow pathology. 3.^a ed. Oxford: Blackwell Science; 2001.
3. Farhi DC. Pathology of bone marrow and blood cells. 2.^a ed. Philadelphia: Walters Kluwer-Lippincott Williams and Wilkins; 2009.
4. Frisch B, Bartl R. Atlas of bone marrow pathology (Vol. 5). Dordrech, Boston, London: Kluwer Acad Publishers; 1990.
5. Ringenber QS, Doll DC, Yarbrow JW, Perry MC. Tumors of unknown origin in the bone marrow. Arch Int Med. 1986;148:2027.
6. Singh G, Krause JR, Breitfeld V. Bone marrow examination for metastatic tumor. Aspirate and biopsy. Cancer. 1977;40:2317-21.
7. Farmi DC. The difficult diagnosis in surgical pathology of the bone marrow. En: Gutiérrez-Hoyos A. 7.^o Curso de Patología. San Sebastián: Imp Boam; 1995.
8. Moid F, De Palma L. Comparison of relative value of bone marrow aspirates and bone marrow trephine biopsies in the diagnosis of solid tumor metastasis and Hodgkin lymphoma. Arch Pathol Lab Med. 2005;129:497-501.
9. Anner RM, Drewinko B. Frequency and significance of bone marrow involvement by metastatic solid tumors. Cancer. 1977;39:1337-44.

10. Wittels B. Surgical pathology of bone marrow (MPP) (Vol. 17). Philadelphia: Saunders Co; 1985.
11. Rosai J. Rosai and Ackerman's Surgical Pathology (Vol. 2). 9.^a ed. St Louis: Mosby; 2004.
12. Foucar K, Reichard KK, Czuchlewski D, Zhang QY, Wilson CS, Uksef MA, Hunt KE. Diagnóstico en patología. Sangre y médula ósea. 1.^a ed. Madrid: Marbán; 2014.
13. Naeim F. Pathology of bone marrow. Baltimore: Williams and Wilkins; 1998.
14. Duhamel G. Histopathologie clinique de la moelle osseuse. París: Masson et Cie; 1974.
15. Atac B, Lawrence B, Goldberg SN. Metastatic tumor: the complementary role of the marrow aspirate and biopsy. Am J Med Sci. 1991;302:211-3.
16. Bjornekleit A, Staven P, Elgjo K. Relative value of external aspiration, iliac crest biopsy and biopsy imprint in the diagnosis of secondary cancer involvement of the bone marrow. Acta Med Scand. 1978;203:279-81.
17. Nanda A, Basu S, Marhawa N. Bone marrow trephine biopsy as an adjunct to bone marrow aspiration. J Assoc Physician India. 2002;50:893-5.
18. Hirsh FR, Hansen HH, Hainau BO. Bilateral bone marrow examination in small cell anaplastic carcinoma of the lung. Acta Pathol Microbiol Scand. 1979;87:59-62.
19. Silverberg SV. Principles and practice of surgical pathology (Vol. 1). 2.^a ed. New York: Churchill and Livingstone; 1990.
20. Cline H. Histiocytes and histiocytosis. Blood. 1994;84:2840-53.
21. Favara BE, Jaffe R. The histopathology of Langerhans cell histiocytosis. Br J Cancer. 1994;23(Suppl):S17-S23.
22. González Reimers E, Álvarez-Argüelles H, Hernández Nieto L, Beutler E, Alarcó Hernández A, Plasencia García V, et al. Síndrome del histiocito azul marino: enfermedad de Niemann-Pick tipo B. Med Clin (Barc). 1986;86:644-6.
23. Méndez Medina R. Patología proliferativa del sistema mononuclear fagocítico. Tesis doctoral. Universidad de La Laguna; 1984.
24. Bhargava V, Farhi DC. Bone marrow granulomas: clinicopathologic findings in 72 cases and review of the literature. Hematol Pathol. 1988;2:43-50.
25. Bodem CM, Hamory BH, Taylor HM, Kleopfer L. Granulomatous bone marrow disease. A review of the literature and clinicopathologic analysis of 58 cases. Medicine. 1983;62:372-83.
26. Eid A, Carion W, Nystrom JS. Differential diagnosis of bone marrow granulomas. West J Med. 1996;164:510-5.
27. Foucar K, Wiswanatha DS, Wilson CS. Non neoplastic disorders of bone marrow. (Vol. 6). Washington: AFIP; 2008.
28. Vilalta-Caster E, Valdés-Sánchez HD, Guerra-Vales JM, Teno-Esteban C, Garzón A, López JL, et al. Significance of granulomas in bone marrow: a study of 40 cases. Eur J Haematol. 1988;41:12-6.
29. Raya Sánchez JM, Álvarez-Argüelles H, Brito Barroso ML, Hernández Nieto L. Bone marrow Fibrin-ring (doughnut) granulomas and peripheral T lymphoma: an exceptional association. Haematologica. 2001;86:112.
30. Horny HP, Metcalfe DD, Bennett JM, Bain BJ, Akin C, Escribano L, Valent P. WHO Classification of tumours of hematopoietic and lymphoid tissues. Lyon: JARC Press; 2008.
31. Chiu A, Orazi A. Mastocytosis and selected disorders. Sem Diagn Pathol. 2012;29:19-30.
32. Thipathi AK, Misra R, Kaira P, Gupta N, Ahmad R. Bone marrow abnormalities in HIV disease. J Assoc Physicians India. 2005;53:705-10.
33. Marche C, Tabbara W, Michen C, Clair B, Bricaire F, Mathiessen L. Bone marrow findings in HIV infection: a pathological study. Progr AIDS Pathol. 1990;2:51-66.
34. Karcher DS, Frost AR. The bone marrow in human immunodeficiency virus (HIV)-related disease. Morphology and clinical correlation. Am J Clin Pathol. 1991;95:63-71.
35. Nash G, Said JW. Pathology of AIDS and HIV infection. (MPP). Vol. 26. Philadelphia: Saunders Co.; 1992.
36. Georgi A, Vykoupil KF. Unspecific mesenchymal reaction in bone marrow in patients with Hodgkin's disease. Recent Results Cancer Res Berl (Germany, West). 1974;46:39-44.
37. Hernández Nieto L, Bueno Aribayos J, Rozman C. La biopsia medular en Hematología Clínica. Resultados en 80 casos. Med Clin (Barc). 1975;66:267-72.
38. Te Velde J, Den Ottolander GJ, Spaander PJ, Van den Berg C, Hartgrink-Groeneveld C. The bone marrow in Hodgkin disease: the non involved marrow. Histopathology. 1978;2:31-46.
39. Burkhardt R, Zettle K, Bartl R. Significance of non-specific changes in the bone marrow tissues from the bioptic viewpoint. Bibl Haematol. 1978;45:38-49.
40. Abrams J, Pearl P, Moody M, Schimpff SC. Epithelioid granulomas revisited: long-term follow-up in Hodgkin's disease. Am J Clin Oncol. 1988;11:456-60.
41. Meire Magalhaes SM, Barros Duarte F, Vasallo J. Multiple lymphoid nodules in bone marrow biopsy in immunocompetent patient with cytomegalovirus infection; an

- immunohistochemical analysis. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2001;34:365-8.
42. Horny HP, Lange K, Sotlar K, Valent P. Increase of bone marrow lymphocyte in systemic mastocytosis: reactive lymphocytosis or malignant lymphoma? Immunohistochemical and molecular findings on routinely processed bone marrow biopsy specimens. *J Clin Pathol.* 2002;56:575-8.
43. Brito Barroso ML, Hernández García MT, Machado Machado P, Hernández Nieto L. Prognostic value of neoplasia associated marrow changes (tumoral nonspecific myelopathy). A study of 172 trephine biopsies. XI Meeting of the International Society of Haematology. European and African Division. Basilea. 31-8 a 6-9/1991. *Schweiz Med Wschr.* 1991;21(Suppl 43):135.
44. Hernández García MT, Brito Barroso ML, Hernández Nieto L, Machado Machado P. Score para la valoración de la mielopatía inespecífica tumoral. El mejor factor pronóstico independiente en pacientes sin afectación medular específica. *An Med Intern.* 1990;(Supl. Diciembre):34-5.

Principios para la elaboración de un informe de biopsia de médula ósea

Hugo Álvarez-Argüelles Cabrera, José María Raya Sánchez,
Luis Hernández Nieto

1. Consideraciones previas

¿Quién debe informar una biopsia de médula ósea (BMO)? Probablemente no exista una única respuesta a esta pregunta. Idealmente, debería ser un especialista con conocimientos hematológicos y anatomopatológicos, pero en nuestro país ambas especialidades están separadas y, por ello, tal vez el profesional más adecuado sería un anatomopatólogo con gran “vocación hematopatológica”. Es un hecho evidente que la interpretación correcta de una BMO exige del conocimiento previo de una serie de datos clínicos, analíticos y hematimétricos del paciente, y del examen de un frotis de sangre y de aspirado medular: todo ello está, sin duda, más al alcance del hematólogo que del patólogo. Pero, por otra parte, el procesamiento del cilindro de biopsia corresponde por lo general al Servicio de Anatomía Patológica. Es por todo lo expuesto que la solución más acertada consiste en una estrecha colaboración entre ambas especialidades y sería aconsejable que, en todo caso, el patólogo emitiera su informe tras un intercambio amplio de datos y de opiniones con el hematólogo. Esto último resulta fundamental en casos de leucemias agudas, síndromes mielodisplásicos, síndromes mieloproliferativos crónicos y ciertos tipos de linfomas.

Antes de proceder a elaborar un informe, interesa establecer si el cilindro de biopsia es satisfactorio o si, por el contrario, es considerado inadecuado para emitir un diagnóstico en firme. Entre las causas de cilindro inadecuado se encuentran las que se detallan a continuación.

1.1. Biopsia superficial

Cuando el cilindro obtenido es escaso y consiste básicamente en una muestra de médula subcortical.

1.2. Material insuficiente

Bien por superficialidad de la biopsia o derivado de una extracción difícil o mal orientada (muestra “tangencial”), o con presencia significativa de cartílago, en el caso de niños.

1.3. Artefactos tisulares

Pueden tener lugar por diferentes motivos, los cuales se recogen en el capítulo 1.

1.4. Lugar de punción inadecuado

Puede ser que se extraiga el cilindro justo de un punto de la espina iliaca en el que se realizara una BMO previamente. Esto puede dar lugar a una apariencia histopatológica de falsa mielofibrosis, que se puede confundir con secuelas cicatriciales de lesiones medulares antiguas o con reacciones desmoplásicas del estroma asociadas a metástasis medulares.

1.5. Inseguridad sobre la correcta identificación de la muestra

Los cilindros de BMO, una vez extraídos, con frecuencia deben ser transportados a otro laboratorio distinto y, excepcionalmente, por tratarse de nombres y apellidos muy parecidos, o por una identificación errónea de las muestras, o por descuido del personal auxiliar encargado de ese transporte, se puede dar el caso de un cambio de identidades, con el consiguiente riesgo de adjudicar diagnósticos cruzados. Nunca se insistirá lo suficiente en lo trascendente de un manejo escrupuloso de todo material biológico. En caso de duda razonable, es preferible realizar una nueva BMO antes de dar un diagnóstico equivocado.

La recogida de datos general se puede realizar utilizando una “hoja de cumplimentación interna” (lo que en términos anglosajones se denomina *checklist*), para luego ordenar la información y trasladarla al informe definitivo. Esta hoja puede tener ventajas e inconvenientes. En el [Anexo 1](#) se expone un ejemplo de la misma, que en todo caso debe ser considerada orientativa. Dada su amplitud, podría adaptarse o eliminar apartados de acuerdo con el tipo de patología medular de que se trate (por ejemplo, una hoja de cumplimentación específica para patología linfoproliferativa).

2. Sistematización del informe

Una vez se ha determinado que el cilindro de biopsia es adecuado, examinada la muestra al microscopio y recogidos todos los datos que pueda aportar, se puede proceder a elaborar el informe. Para ello, tendremos en cuenta los aspectos detallados a continuación, que se exponen esquemáticamente.

2.1. Datos de filiación

1. Nombre y apellidos.
2. Número de historia clínica.
3. Edad.
4. Servicio de procedencia y médico responsable.
5. Fecha de realización de la BMO.
6. Persona que realiza el procedimiento.

7. Diagnóstico de sospecha o de certeza.
8. BMO previas.

2.2. Aspectos descriptivos

1. Trama ósea:
 - Grosor de las trabéculas.
 - Alteración de su estructura lamelar.
 - Hiperactividad remodeladora (osteoblástica u osteoclástica).
2. Relación celularidad/grasa:
 - Celularidad hematopoyética.
 - Patrones de distribución de la grasa.
3. Valoración de las series granulocítica, eritroblástica y megacariocítica:
 - Proporción relativa.
 - Maduración de las series.
 - Distribución topográfica de las series.
4. Otras células (valorando su posible carácter proliferativo-neoplásico):
 - Sistema mononuclear-fagocítico.
 - Linfocitos.
 - Células plasmáticas.
 - Mastocitos.
5. Celularidad extraña en médula ósea:
 - Metástasis.
6. Valoración del estroma:
 - Fibrosis reticulínica (grados de fibrosis).
 - Fibrosis colágena.
 - Vasculatura (luces y paredes vasculares).

2.3. Tinciones utilizadas

Habituales:

- Hematoxilina-eosina.
- Giemsa.
- PAS.
- Reticulina.
- Tricrómico.
- Perls.

Especiales:

- No inmunohistoquímicas (rojo Congo, tioflavina, Ziehl-Neelsen, etc.).
- Inmunohistoquímicas (especificar).

ANEXO 1. HOJA DE CUMPLIMENTACIÓN INTERNA DE LA BMO (CHECKLIST)

DATOS PERSONALES DEL PACIENTE

Nombre.

Fecha de nacimiento (edad)

Número de historia clínica

Médico que solicita la prueba

Médico que realiza la prueba.

Diagnóstico de sospecha

Diagnóstico de certeza.

Motivo de realización de la BMO.

BMO previas

Otros datos de interés

.

DATOS DE LA BIOPSIA

II.A. MACROSCÓPICOS

II.A.1. Tamaño del cilindro: (cm)

II.A.2. Integridad del cilindro:

II.A.2.1. Completo ☐

II.A.2.2. Fragmentado (enumerar y medir) ☐

II.A.3. Biopsia: UNILATERAL ☐ BILATERAL ☐

II.A.4. Otros:

II.B. MICROSCÓPICOS

II.B.1. Celularidad hematopoyética global (conforme a edad del paciente):

NORMAL ☐

AUMENTADA ☐

DISMINUIDA ☐

II.B.2. Grado y patrón de aplasia si existiera:

GRADO 1 ☐ DIFUSA ☐

GRADO 2 ☐ HETEROGÉNEA ☐

GRADO 3 ☐

II.B.3. Celularidad series granulocítica, eritroide y megacariocítica:

II.B.3.1. Proporción entre series:

NORMALIDAD ☐

ANEXO 1. HOJA DE CUMPLIMENTACIÓN INTERNA DE LA BMO (CHECKLIST) (cont.)

AUMENTO RELATIVO DE:

SERIE ROJA ☐

SERIE GRANULOCÍTICA ☐

SERIE MEGACARIOCÍTICA ☐

DESCENSO RELATIVO DE:

SERIE ROJA ☐

SERIE GRANULOCÍTICA ☐

SERIE MEGACARIOCÍTICA ☐

II.B.3.2. Cantidad anormal de células inmaduras:

SÍ ☐ NO ☐

SERIE ROJA ☐

SERIE GRANULOCÍTICA ☐

SERIE MEGACARIOCÍTICA ☐

FENÓMENO DE LAPI SÍ ☐ NO ☐

II.B.3.3. Datos de displasia y atipias:

SÍ ☐ NO ☐

SERIE ROJA ☐

SERIE GRANULOCÍTICA ☐

SERIE MEGACARIOCÍTICA ☐

II.B.4. Celularidad accesoria:

II.B.4.1. Sistema mononuclear-fagocítico:

HISTIOCITOSIS SÍ ☐ NO ☐

HEMOSIDEROSIS SÍ ☐ NO ☐

LEVE ☐ MODERADA ☐ INTENSA ☐

HEMOFAGOCITOSIS SÍ ☐ NO ☐

ATIPIAS CELULARES SÍ ☐ NO ☐

GRANULOMAS SÍ ☐ NO ☐

HISTIOCÍTICOS ☐

LIPÍDICOS ☐

EPITELIOIDES ☐

II.B.4.2. Linfocitos:

LINFOCITOSIS SÍ ☐ NO ☐

NÓDULOS/AGREGADOS SÍ ☐ NO ☐

NÚMERO

LÍMITES PRECISOS SÍ ☐ NO ☐

ANEXO 1. HOJA DE CUMPLIMENTACIÓN INTERNA DE LA BMO (CHECKLIST) (cont.)

DISTRIBUCIÓN

CENTRAL ☐
 PARATRABECULAR ☐
 PLACA ☐
 DIFUSA ☐
 INTERSTICIAL ☐
 INTRASINUSOIDAL ☐
 MIXTA (especificar)
 OTROS (especificar)

CELULARIDAD

TÍPICA ☐ ATÍPICA ☐
 MONOMORFO ☐ POLIMORFO ☐
 ACTIVIDAD MITÓTICA Alta ☐ Baja ☐

NO HODGKIN:

PEQUEÑA: ESCASA ☐ ABUNDANTE ☐
 NÚCLEO REGULAR ☐ IRREGULAR ☐
 MEDIANA: ESCASA ☐ ABUNDANTE ☐
 GRANDE: ESCASA ☐ ABUNDANTE ☐

TIPO CELULAR (especificar):

INMUNOFENOTIPO: B ☐ T ☐ No B/No T ☐
 CÉLULAS ANEXAS: HISTIOCITO/EPITELIOIDE ☐
 OTRAS (especificar)

HODGKIN:

CÉLULA LINFO-HISTIOCITARIA ☐
 CÉLULA KLIMA/REED-STERMBERG ☐
 ESCASA ☐ ABUNDANTE ☐

CÉLULA LACUNAR ☐

CÉLULAS ANEXAS:

LINFOCITOS: Escasos ☐ Abundantes ☐
 PLASMÁTICAS: Escasas ☐ Abundantes ☐
 NEUTRÓFILOS/EOSINÓFILOS:
 Escasos ☐ Abundantes ☐
 HISTIOCITOS/EPITELIOIDES:
 Escasos ☐ Abundantes ☐

II.B.4.3. Células plasmáticas:

PLASMOCITOSIS Sí ☐ NO ☐
 LEVE ☐ MODERADA ☐ INTENSA ☐

ANEXO 1. HOJA DE CUMPLIMENTACIÓN INTERNA DE LA BMO (CHECKLIST) (cont.)

PATRÓN

PERIVASCULAR ☐

INTERSTICIAL ☐

PLACA ☐

DIFUSA ☐

MIXTA (especificar)

ATIPIAS CELULARES SÍ ☐ NO ☐

CUERPOS DE RUSSELL SÍ ☐ NO ☐

OTROS (especificar)

II.B.4.4. Mastocitos:

AUMENTO SÍ ☐ NO ☐

DISTRIBUCIÓN

FOCAL ☐ DIFUSA ☐ PERILESIONAL ☐

II.B.5. Estroma conjuntivo-vascular:

II.B.5.1. Fibrosis reticulínica:

FIBROSIS RETICULÍNICA SÍ ☐ NO ☐

GRADO I ☐ II ☐ III ☐

DISTRIBUCIÓN:

DIFUSA SÍ ☐ NO ☐

FOCAL SÍ ☐ NO ☐

CENTRAL ☐

PERITRABECULAR ☐

LESIONAL ☐

OTROS (especificar)

II.B.5.2. Fibrosis "colágena":

FIBROSIS COLÁGENA SÍ ☐ NO ☐

INTENSIDAD Leve ☐ Moderada ☐ Intensa ☐

DISTRIBUCIÓN:

DIFUSA SÍ ☐ NO ☐

FOCAL SÍ ☐ NO ☐

II.B.5.3. Edema intersticial:

EDEMA INTERSTICIAL SÍ ☐ NO ☐

Escaso/Moderado ☐ Intenso ☐

II.B.5.4. Hemorragia:

HEMORRAGIA SÍ ☐ NO ☐

Focal ☐ Difusa/extensa ☐

ANEXO 1. HOJA DE CUMPLIMENTACIÓN INTERNA DE LA BMO (CHECKLIST) (cont.)

II.B.5.5. Red vascular:

AUMENTADA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
ECTASIA SINUSOIDAL	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
ALT. DE LA PARED	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
ENGR. HIALINO	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
AMILOIDE	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
NECROSIS FIBRINOIDE	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
OTROS (especificar)		
TROMBOSIS	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
TR. HIALINO	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
TR. COLESTEROL	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
OTROS (especificar)		

II.B.6. Trama ósea:

ENGR. TRABECULAR	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
ADELG. TRABECULAR	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
EROSIÓN TRABEC. FOCAL	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
LAMINACIÓN TRABEC. NORMAL	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
ACTIV. OSTEOBLÁSTICA		
AUMENTADA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
INTENSIDAD	Leve <input type="checkbox"/>	Moderada <input type="checkbox"/>
DISTRIBUCIÓN	Focal <input type="checkbox"/>	Difusa <input type="checkbox"/>
		Marcada <input type="checkbox"/>
ACTIV. OSTEOCLÁSTICA		
AUMENTADA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
INTENSIDAD	Leve <input type="checkbox"/>	Moderada <input type="checkbox"/>
DISTRIBUCIÓN	Focal <input type="checkbox"/>	Difusa <input type="checkbox"/>
		Marcada <input type="checkbox"/>

II.B.7. Otras patologías no neoplásicas:

SÍ ☐ NO ☐

ESPECIFICAR (p.e., absceso, infarto, degeneración gelatinosa, etc.)

II.B.8. Celularidad neoplásica no hematológica:

SÍ ☐ NO ☐

NATURALEZA O ESTIRPE:

EPITELIAL ☐
 MESENQUIMAL ☐
 OTROS (especificar)

ANEXO 1. HOJA DE CUMPLIMENTACIÓN INTERNA DE LA BMO (CHECKLIST) (cont.)

DESCRIPCIÓN EN CUANTO A:

PATRÓN DE CRECIMIENTO

CARACTERÍSTICAS DE LAS CÉLULAS

ACTIVIDAD MITÓTICA

CAMBIOS INTRATUMORALES

TEJIDO PERITUMORAL

II.C. TÉCNICAS VALORADAS:

II.C.1. Habituales:

HEMATOXILINA-EOSINA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
GIEMSA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
PAS	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
RETICULINA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
TRICRÓMICO	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
PERLS	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>

II.C.2. Especiales:

ROJO CONGO	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
TIOFLAVINA	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>
ZIEHL-NEESEN	SÍ <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>

OTROS (especificar)

INMUNOHISTOQUÍMICA (especificar)

DICTAMEN O DIAGNÓSTICO

Con la colaboración de

